BIOCHIMIE CLINICĂ

FUNDAMENTARE FIZIOPATOLOGIC



Sub redacția

M. Cucuianu

I. Crîsnic

Luminița Pleșca-Manea

Daci

BIOCHIMIE CLINICĂ

FUNDAMENTARE FIZIOPATOLOGICĂ

Sub redacţia
M.Cucuianu, I.Crîsnic, Luminiţa Pleşca-Manea

Colaboratori
Ioana Brudaşcă, F.Niculescu, H.G.Rus, I.Trif

PREFAȚĂ

Manualele de Biochimie Clinică *publicate în 1977 (Vol.I) şi 1979 (Vol.II) s-au epuizat de mult şi sunt, de altfel, în mare măsură depăşite, iar volumul* "Biochimie Aplicaţii clinice" *apărut în 1991 într-un tiraj limitat, a dispărut din librării în decurs de câteva săptămâni de la publicare.*

Pe de altă parte, cursul de Biochimie clinică *inițiat la Cluj cu studenții anului IV Medicină şi cu rezidenții în specialitatea laborator clinic s-a extins şi în alte centre universitare, iar țări din Comunitatea Europeană (de exemplu Grecia) nu recunosc diplomele care nu includ un examen de Biochimie clinică.*

S-a ivit deci necesitatea unei reluări şi completări a materialelor publicate anterior.

În alegerea diverselor capitole, ne-am orientat în funcție de frecvența cu care anumite explorări biochimice sunt solicitate laboratorului de către secțiile clinice.

Ca urmare, acest volum cuprinde 10 capitole şi anume: 1) Metabolismul lipidelor şi ateroscleroza; 2) Bazele fiziopatologice ale explorării proteinelor plasmatice; 3) Concepte de bază şi interpretarea variațiilor patologice ale enzimelor serice; 4) Fiziopatologia biochimică a secreției biliare; 5) Bazele fiziopatologice ale explorării funcțiilor ficatului; 6) Metabolismul fierului, cuprului şi zincului; 7) Metabolismul calciului, fosforului şi magneziului; 8) Anomaliile echilibrului acido-bazic; 9) Anomaliile echilibrului hidromineral; 10) Acidul uric şi guta.

Deşi explorarea glicemiei este frecvent solicitată laboratorului, nu am abordat metabolismul hidraților de carbon, întrucât diabetul zaharat este predat in extenso în cadrul medicinii interne, există numeroase tratate de diabetologie, iar în unele centre medicale s-au înființat discipline profilate pe studiul diabetului zaharat.

Menționăm că o serie de manuale de laborator clinic şi chiar de Biochimie clinică se limitează la o înşiruire de stări patologice în care survine o abatere de la normal a unei anumite variabile explorate în laboratorul de biochimie. Spre deosebire de aceste compendii, în prezentul volum, mai mult decât în cele redactate anterior, am insistat asupra mecanismelor prin care se poate ajunge la o deviere de la normal a constantelor biochimice şi asupra modului în care astfel de anomalii determină manifestări patologice. Avem convingerea că, în acest fel, medicii precum şi biologii şi chimiştii care lucrează în laboratoarele clinice vor înțelege mai bine valoarea diagnostică şi limitele diverselor investigații biochimice. Ca urmare, titlul de Biochimie clinică - Fundamentare Fiziopatologică *ni se pare mai adecvat conținutului.*

Suntem însă conştienți că progresul ştiinței şi în special datele de biologie moleculară vor face ca unele din interpretările pe care le redăm astăzi să devină perimate.

Apariția acestui volum nu ar fi fost posibilă fără sprijinul generos şi dezinteresat acordat de Universitatea de Vest "Vasile Goldiş" din Arad, firma S.C.Lacurezeana S.R.L.Arad pre-

cum şi de către firmele clujene D.G.Instrumente ştiinţifice, TEMCO şi REDOX la care se adaugă firma NOBIS din Germania.

Tuturor celor care ne-au ajutat le aducem mulţumiri pe această cale. Suntem totodată recunoscători Editurii Dacia de care ne leagă o veche şi fructuoasă colaborare.

CUPRINS

1. METABOLISMUL LIPIDELOR ŞI ATEROSCLEROZA

Existenţa unei legături între anomaliile metabolismului lipidic şi dezvoltarea leziunilor aterosclerotice ale vaselor este susţinută de o serie de argumente de ordin experimental, de studii populaţionale precum şi de numeroase observaţii clinice şi de laborator.

Primele cercetări experimentale demonstrând o încărcare cu lipide a peretelui aortei la iepure au fost criticate, acest animal ierbivor neconsumând în mod normal alimente bogate în colesterol, iar infiltrarea cu colesterol extinzându-se în acest caz şi la vezica biliară, ganglionii limfatici şi splină.

Studiile ulterioare, bazate pe încărcări alimentare cronice cu lipide şi colesterol la animale omnivore, cum sunt porcul şi maimuţele, au reprodus însă leziuni asemănătoare cu cele întâlnite în ateroscleroza umană (21,29,31).

Studiul comparativ al unor populaţii (studii de epidemiologie a bolilor netransmisibile) a arătat că incidenţa aterosclerozei şi mai ales mortalitatea prin infarct miocardic sunt mai frecvente la populaţia din ţările puternic industrializate, caracterizate şi printr-un consum mai crescut de grăsimi şi având un nivel mai ridicat al colesterolemiei. Între ţările cu o incidenţă deosebit de ridicată a aterosclerozei se numără Finlanda, Suedia, S.U.A. iar în ultimii ani Polonia şi România, în timp ce mortalitatea prin infarct miocardic este mult mai redusă la populaţiile din Vietnam, Coreea sau unele ţări în curs de dezvoltare din Africa şi America Latină, a căror raţie alimentară este relativ săracă în grăsimi de origine animală (49,52).

Nu trebuie uitat însă că în astfel de **studii populaţionale transversale** care compară diferite tipuri de populaţie, diferenţele nu se limitează la modul de alimentaţie ci se extind şi la alte aspecte ale modului de viaţă cum sunt sedentarismul, fumatul şi stările de încordare psihoemoţională impuse de situaţiile competitive din societăţile moderne (43).

Un argument mai puternic în favoarea teoriei metabolice a aterosclerozei este furnizat de **studiile prospective** de durată (studii longitudinale) care urmăresc apariţia manifestărilor clinice de ateroscleroză la subiecţii care erau iniţial sănătoşi. Bine cunoscutul studiu de la Framingham a demonstrat astfel că, în decurs de 5 ani de urmărire, incidenţa infarctului miocardic a fost de patru ori mai mare la bărbaţii de vârstă medie, având colesterolemia peste 270 mg/dl, decât la bărbaţii din aceeaşi grupă de vârstă, având un nivel al colesterolului seric sub 200 mg/dl (28,30).

În această ordine de idei trebuie arătat că în unele ţări (de ex. S.U.A.) în care s-au luat măsuri pentru reducerea consumului de dulciuri şi de grăsimi saturate, s-au făcut progrese în privinţa renunţării la fumat şi s-a promovat practicarea sistematică a exerciţiului fizic, incidenţa complicaţiilor aterosclerozei are o tendinţă la scădere (18). Din păcate nu acelaşi lucru se poate afirma în cazul populaţiei din ţara noastră unde se observă chiar o tendinţă de creştere a incidenţei infarctului miocardic.

Studii clinice şi de laborator au arătat că leziunile aterosclerotice survin frecvent în boli care se însoţesc de o importantă creştere a colesterolemiei (sindrom nefrotic, diabet zaharat, hipotiroidism) iar hipercolesterolemia familială duce la dezvoltarea unei ateroscleroze severe

şi precoce, astfel încât homozigoţii pentru această anomalie ajung la deces prin infarct miocardic, chiar înaintea vârstei de 30 de ani (8,10,43,51).

Observaţii clinice au mai arătat că o bună parte a bolnavilor cu cardiopatie ischemică prezintă un nivel mai crescut al lipidelor serice (colesterol şi/sau trigliceride) decât subiecţii clinic sănătoşi de aceeaşi vârstă. Există însă şi unele neconcordanţe între datele clinice şi de laborator. Astfel se pot întâlni **persoane clinic sănătoase care prezintă hiperlipidemie**. În lumina studiilor prospective menţionate anterior astfel de persoane pot fi însă considerate ca prezentând un important factor de risc, alături de hipertensiune şi de fumat. Aşa cum se va arăta ulterior, există şi anumite tipuri de hiperlipoproteinemie care nu se asociază frecvent cu ateroscleroza.

Se constată şi **cazuri cu suferinţe vasculare clinic manifestate care nu prezintă hiperlipidemie evidentă**, existând mai multe explicaţii posibile ale acestor situaţii. Aşa de exemplu, la bărbaţii vârstnici (trecuţi de 65 ani) nivelul lipidelor serice tinde adeseori să scadă, existând astfel posibilitatea ca leziunile aterosclerotice instalate într-o perioadă anterioară să progreseze mocnit şi să se manifeste clinic la o vârstă înaintată, când alterările spectrului lipidic s-au atenuat.

De notat că în zilele următoare unui infarct miocardic acut, cu stare de şoc şi congestie a ficatului, se produce o scădere a sintezei hepatice de lipoproteine. Nu trebuie uitat că arteriopatiile pot fi şi de natură inflamatorie (ricketsiană, reumatică sau în cadrul unei colagenoze). De altfel, aşa cum se va arăta pe parcurs, dezvoltarea aterosclerozei depinde şi de anumite particularităţi ale structurii lipoproteice, lipoproteinele relativ mai bogate în apolipoproteina B şi având dimensiuni mai reduse par a fi mai aterogene (22,33). De asemenea, scăderea lipoproteinelor cu densitate mare (HDL) conferă un risc pentru ateroscleroză chiar dacă colesterolul total nu este mult crescut (51). De notat că prezenţa unei lipoproteine particulare denumite Lp (a) constituie un important factor de risc independent de prezenţa unei hiperlipidemii (26).

Cu toate rezervele amintite, se poate afirma că determinările de lipide şi lipoproteine serice sunt de un real folos practic pentru depistarea subiecţilor cu risc de a dezvolta ateroscleroza precoce a coronarelor precum şi pentru precizarea naturii aterosclerotice a unei arteriopatii. Ca urmare, în ultimele decenii s-au realizat mari progrese în domeniul metabolismului lipidelor.

1.1. METABOLISMUL LIPOPROTEINELOR ŞI TRANSPORTUL PLASMATIC AL LIPIDELOR

Lipidele sunt menţinute în mediul apos al plasmei datorită formării unor complexe cu anumite grupări proteice denumite apolipoproteine sau mai simplu apoproteine. Aceste complexe alcătuind particulele de lipoproteine au de regulă o formă sferică, la suprafaţa lor aflându-se moleculele cu grupări polare hidrofile (proteine, fosfolipide şi colesterol liber) care învelesc un miez ce conţine esteri de colesterol şi trigliceride cu caracter hidrofob. Legăturile dintre apoproteine şi lipide se datoresc, cel puţin în parte, proprietăţilor lanţurilor polipeptidice capabile de a forma structuri helicoidale, având atât suprafeţe hidrofobe-lipofile în contact cu miezul lipidic, cât şi radicali hidrofili în contact cu mediul apos (vezi fig.1.1).

Deşi toate lipoproteinele plasmatice conţin atât proteine cât şi colesterol, trigliceride şi fosfolipide, particulele lipoproteice diferă între ele în privinţa raportului dintre proteine şi lipide, a raportului dintre diferitele componente lipidice, precum şi în ceea ce priveşte natura apopro-

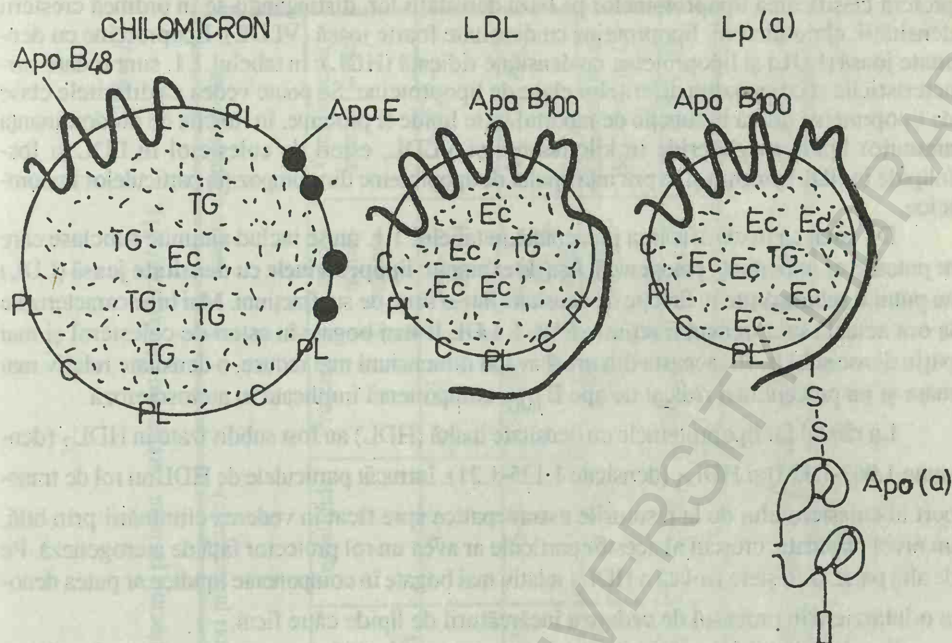


Fig.1.1. Reprezentare schematică a unor lipoproteine conţinând apoproteina B. Chilomicronii conţin apoproteina B_{48} o formă trunchiată a apoproteinei B_{100} cu care sunt dotate LDL. In cazul Lp (a) - apo B_{100} este legată prin punţi sulfhidrice de apo (a) a cărei structură dotată cu anse în covrig (kringles) prezintă o strânsă analogie cu structura plasminogenului.
C - colesterol; PL - fosfolipide; EC - esteri de colesterol; TG - trigliceride. Se poate vedea că lipoizii dotaţi cu grupări polare hidrofile se dispun la periferia particulelor şi învelesc miezul conţinând trigliceride (predominante în chilomicroni) şi esteri de colesterol (predominând în LDL şi Lp (a)) şi care au un caracteri hidrofob.

teinelor din compoziţia lor. Diferenţa de structură se repercutează asupra proprietăţilor fizico-chimice ale particulelor lipoproteice, proprietăţi pe care se bazează separarea diverselor clase de lipoproteine prin ultracentrifugare sau migrare electroforetică (39,51).

1.1.1. CLASE DE LIPOPROTEINE

Separarea prin ultracentrifugare se bazează pe faptul că, într-un mediu cu o anumită densitate, unele fracţiuni lipoproteice mai bogate în trigliceride dar mai sărace în proteine şi având deci o densitate mai joasă, tind să urce la suprafaţă (să floteze). Viteza de flotare a lipoproteinelor se exprimă în unităţi Svedberg (Sf), o unitate Sf fiind egală cu 10^{-13} cm/S/dyn/g la 26^{o}C. Alt mod de exprimare se bazează pe densitatea relativă a lipoproteinelor (g/ml).

Separarea electroforetică a lipoproteinelor, bazată pe diferenţele în privinţa încărcării electrice şi a dimensiunii particulelor lipoproteice, se practică pe scară largă în laboratoarele clinice utilizându-se geluri de agaroză sau, mai rar, de poliacrilamidă. Literatura de specialitate

preferă clasificarea lipoproteinelor pe baza densității lor, distingându-se în ordinea creșterii densității: chilomicroni, lipoproteine cu densitate foarte joasă (VLDL), lipoproteine cu densitate joasă (LDL) și lipoproteine cu densitate ridicată (HDL). În tabelul 1.1. sunt redate caracteristicile și compoziția diferitelor clase de lipoproteine. Se poate vedea că diferitele clase de lipoproteine diferă în funcție de raportul între lipide și proteine, în funcție de predominanța anumitor lipide (trigliceride în kilomicroni și VLDL, esteri de colesterol în LDL și fosfolipide în HDL) precum și în privința tipului de apoproteine din compoziția particulelor lipoproteice.

De notat că în clasificarea prezentată în tabelul 1.1. nu se includ anumite subclase care ar putea avea importanță patogenică. Așa de exemplu: **lipoproteinele cu densitate joasă** (LDL) au putut fi subîmpărțite în funcție de densitate într-o serie de subfracțiuni. Mai bine caracterizate la ora actuală sunt trei subfracțiuni: LDL I, LDL II mai bogate în esteri de colesterol și mai puțin dense și LDL III, aceasta din urmă având dimensiuni mai reduse, o densitate relativ mai mare și un procent mai ridicat de apo B_{100}, componentă implicată în ateroscleroză.

La rândul lor lipoproteinele cu densitate înaltă (HDL) au fost subdivizate în HDL_2 (densitate 1,063-1,125) și HDL_3 (densitate 1,125-1,21). Întrucât particulele de HDL au rol de transport al colesterolului de la țesuturile extrahepatice spre ficat în vederea eliminării prin bilă, un nivel plasmatic crescut al acestor particule ar avea un rol protector față de aterogeneză. Pe de altă parte, o creștere izolată a HDL_2 relativ mai bogate în componente lipidice ar putea denota o întârziere în procesul de cedare a încărcăturii de lipide către ficat.

Tot din tabelul 1.1. a reieșit o oarecare corespondență între separările electroforetice și cele bazate pe ultracentrifugare. Se întâlnesc însă și situații în care corespondența aceasta nu este respectată. Așa de exemplu, la 10-20% din subiecții (normo- sau hiperlipemici) se constată prezența unei lipoproteine particulare cu migrare în fracțiunea prebeta dar care la ultracentrifugare prezintă o densitate cuprinsă între 1,05-1,1 fiind deci mai apropiată de densitatea particulelor LDL. Această prebetalipoproteină care "se scufundă" (sinking prebeta) este cunoscută sub denumirea de **Lp (a)** și reprezintă de fapt o particulă LDL care la nivelul apoproteinei B_{100} mai are atașată - prin punți sulfhidrice (S-S) - o **apoproteină particulară apo (a)**. Având o structură în mare măsură similară cu plasminogenul, apo (a) și respectiv Lp (a) vădesc o mare afinitate față de fibrină, fibronectină și proteoglicani, considerându-se că o astfel de afinitate ar putea explica cel puțin în parte caracterul deosebit de aterogen al acestei lipoproteine (26).

Din catabolismul VLDL rezultă particule cu densitate intermediară între VLDL și LDL. Aceste lipoproteine intermediare (IDL) se află în cantități foarte mici la subiecții normali, fiind rapid captate în receptorii hepatici și îndepărtate din circulație. În hiperlipoproteinemia tip III (disbetalipoproteinemie) apare însă o particulă lipoproteică alcătuită din resturi parțial catabolizate de VLDL și resturi de chilomicroni, care flotează împreună cu VLDL, dar migrează electroforetic cu β lipoproteinele, de unde și denumirea de **β-VLDL** (beta lată, beta care flotează).

O lipoproteină care apare în cazurile de colestază (mai ales extrahepatică) este așa-zisa lipoproteină X (LpX). La electroforeză în agaroză LpX migrează în spatele fracțiunii beta fiind însă aproape lipită de aceasta, iar la electroforeză în agar este singura lipoproteină care migrează spre polul negativ. LpX este alcătuită mai ales din fosfolipide (65%) și colesterol liber (25%) iar componentele proteice sunt reprezentate de un amestec neobișnuit de albumină,

Tabel 1.1.

Compoziția lipoproteinelor izolate de la subiecți normali. Tabel întocmit pe baza datelor din literatură (6,51)

Clasa de lipoproteine	Densitate	Migrare electroforetică în agaroză	Compoziție (valori procentuale)					Natura apoproteinelor	
			Trigliceride	Colesterol		Fosfolipide	Proteine	Componente majore	Componente minore (urme)
				liber	esteri				
Chilomicroni	0,94 (Sf >400)	origine (nu migrează)	85-90	1-3	2-4	3-6	1-2	B_{48},C-I, C-III, A-I, A-IV, E	A-II, C-II
Lipoproteine cu densitate foarte joasă (VLDL)	0,94-1,006 (Sf 20-400)	prebeta	50-65	4-8	12-22	15-20	6-10	B_{100}, E, C-I, C-II, C-III	A-I, A-II, A-IV
Lipoproteine cu densitate joasă (LDL)	1,006-1,063	beta	4-8	6-8	45-50	18-24	18-22	B_{100}	Eventual urme de C-I, C-II, C-III, E
Lipoproteine dense (HDL)	1,063-1,21	alfa	2-7	3-5	15-20	26-32	45-55	A-I, A-II	C-I, C-II, C-III, D, E

În timp ce apo A-I și apo A-II rămân în particulele de HDL pe toată durata prezenței acestor lipoproteine în plasmă, apo C-II, C-III și apo E sunt în permanență transferate spre chilomicroni și spre VLDL. n acest fel, deși HDL reprezintă un rezervor de apoproteine C și E, concentrația procentuală a acestor apoproteine în particulele de HDL este relativ joasă.

apoproteină C şi mici cantităti de apo A-I şi apo E.

Formarea acestei lipoproteine este determinată de retenţia de colesterol liber şi fosfolipidic. ca urmare a opririi fluxului biliar. Apariţia LpX survine însă şi în deficitul de lecitin: colesterol aciltransferază (LCAT) enzima care asigură esterificarea colesterolului în plasmă (vezi pag. 56).

1.1.2. APOPROTEINELE

Componentele proteice ale lipoproteinelor. denumite apolipoproteine sau mai simplu apoproteine au putut fi izolate. iar în urma preparării de antiseruri pot fi astăzi dozate prin metode imunochimice. Caracteristicile principalelor apoproteine sunt redate în tabelul 1.2. S-a putut preciza că locul de sinteză al apoproteinelor este reprezentat de ficat şi intestin iar semnificaţia lor funcţională poate fi astfel sistematizată.

A. Apoproteinele menţin în soluţie lipidele plasmatice asigurând transportul lor.

B. Unele apoproteine constituie cofactori ai unor reacţii enzimatice implicate în metabolismul lipidelor. Aşa de exemplu ApoC-II este un cofactor activator al lipoproteinlipazei (LPL) cu rol în hidroliza trigliceridelor din chilomicroni şi VLDL (vezi pag 26) iar apo C-III întârzie această hidroliză prevenind o eliberare prea bruscă de acizi graşi liberi din trigliceride. De asemenea apoproteina A-I este un cofactor al reacţiei de esterificare a colesterolului catalizată de lecitin: colesterol aciltransferază (LCAT) (Vezi pag. 31).

C. O serie de apoproteine ca de exemplu Apo B_{100} în LDL. apo B_{48} în chilomicroni şi apo E în VLDL. IDL. HDL şi resturi de chilomicroni reprezintă liganzii. respectiv unităţile prin intermediul cărora receptorii celulari recunosc. captează şi internalizează lipoproteinele respective. ducând la îndepărtarea lor din plasmă. Este evident că perturbarea procesului de clearance al lipoproteinelor poate surveni fie din cauza unor defecte ale receptorilor. fie ca urmare a unor mutaţii care. alterând structura apoproteinelor cu rol de ligand. fac ca lipoproteinele să devină "de nerecunoscut"de către receptori.

Din cele relatate mai sus (vezi şi tabel 1.2) apo B se găseşte în organism sub două variante: una cu greutate moleculară relativ joasă (apo B_L sau apo B_{48}) aflată în chilomicroni şi sintetizată de mucoasa intestinală şi o variantă cu greutate moleculară mai mare (apo B_H sau apo B_{100}) sintetizată în ficat şi încorporată în VLDL. IDL şi LDL. Important este faptul că în organism există receptori specializaţi fie pentru apo B_{48}. fie pentru apo B_{100} (18). iar apo E facilitează şi accelerează procesul de captare. atât în cazul particulelor de IDL cât şi în cazul resturilor de chilomicroni.

De subliniat că în cursul dezvoltării leziunilor aterosclerotice apo B_{100} se acumulează în plăcile ateromatoase într-un ritm mai accelerat decât colesterolul. acest fapt denotând că apo B_{100} este mai greu depurat din placă decât colesterolul (9). De altfel. nivelul plasmatic crescut de apo B_{100} reprezintă un factor de risc pentru ateroscleroză mai important decât creşterea colesterolemiei (22. 51). S-a mai arătat că atât o alimentaţie bogată în zaharoză cât şi un aport alimentar crescut de lipide saturate şi de colesterol stimulează sinteza hepatică de apo B_{100}.

D. Există şi dovezi privind existenţa unor proteine cu rol de transfer neenzimatic al lipidelor între diferitele clase de lipropoteine (6).

Aşa. de exemplu. **proteina de transfer a esterilor de colesterol** (cholesterol-ester exchange protein. CeEP) are afinitate pentru HDL şi caracteristici similare cu apo D. Rolul

Tabel 1.2.

Caracteristici şi funcţiuni diferenţiate ale apoproteinelor, toate apoproteinele având rol în menţinerea structurii şi respectiv solubilitatea lipoproteinelor. LCAT - lecitin: colesterol aciltransferază; LPL - lipoproteinlipază. După datele din literatură (6,51).

Apoproteina	Greutate moleculară aproximativă	Concentraţie plasmatică medie (mg/dl)	Clase de lipoproteine în care se depistează	Funcţia
Apo A I	28300	160	HDL chilomicroni	Cofactor LCAT
Apo A II	17000	35	HDL chilomicroni	Cofactor pentru lipaza hepatică ?
Apo A IV	46000	15	Chilomicroni	?
Apo B_{100} (B_H)	549000	80	VLDL, IDL, LDL	Ligand prin care LDL şi LDL sunt captate de receptorii celulei
Apo B_{48} (B_L)	260000	urme	Chilomicroni	Ligand pentru captarea raporturilor de chilomicroni
Apo C I	6300	7	Chilomicroni VLDL, HDL	Slab efect de activare al LCAT
Apo C II	8800	4	VLDL, HDL, Chilomicroni	Cofactor al LPL
Apo C III	8800	13	Chilomicroni VLDL	Limitează acţiunea LPL. Întârzie captarea resturilor de chilomicroni
Apo D (A III) (CeEP)*	35200	6	HDL	Transfer al esterilor de colesterol din HDL spre LDL şi VLDL
Apo E	37000	5	Chilomicroni VLDL, HDL	Ligand pentru captarea lipoproteinelor de către receptorii celulari

S-au mai descris apoproteinele F, G şi H a căror semnificaţie este incertă.
* CeEP - proteina de transfer a esterilor de colesterol (cholesterol ester exchange protein)

CeEP ar fi acela de a facilita transferul esterilor de colesterol din HDL spre LDL şi VLDL. Se consideră că CeEP ar favoriza şi transferul din LDL spre VLDL contribuind la formarea unor particule de LDL mai sărace în lipide şi deci mai dense (LDL III).

Proteina de transfer a trigliceridelor (TgEP) este înglobată în chilomicroni şi în VLDL şi ar facilita transferul bidirecţional de trigliceride între LDL şi HDL şi între LDL şi VLDL.

Proteina de transfer a fosfolipidelor (PlEP) ar favoriza transferul de lecitină între HDL şi LDL precum şi între HDL şi VLDL.

Aşa cum se va arăta în continuare, depistarea diverselor deficienţe sau anomalii ale apoproteinelor au contribuit în mare măsură la elucidarea mecanismelor de producere a hiperlipoproteinemiilor şi a unor scăderi condiţionate genetic ale diferitelor clase de lipoproteine.

1.1.3. COMPONENTELE LIPIDICE ALE LIPOPROTEINELOR

Dozarea diferenţiată a colesterolului, trigliceridelor şi fosfolipidelor în diferitele clase de lipoproteine ar implica o prealabilă separare a acestora prin ultracentrifugare preparativă. O oarecare orientare se poate obţine prin precipitarea VLDL şi LDL fie cu dextran sulfat şi $MnCl_2$, fie cu heparină şi $MnCl_2$ sau cu fosfowolframat de sodiu şi $MgCl_2$, dozându-se apoi colesterolul din particulele de HDL rămase în supernatant. Avându-se în vedere că în VLDL concentraţia colesterolului este de aproximativ 1/5 din cea a trigliceridelor (exprimate în mg/dl) se poate calcula concentraţia colesterolului din LDL în mg/dl conform formulei propuse de Fridewald: mg/dl LDL colesterol = colesterol total - (HDL colesterol + Trigliceride/5). S-au elaborat şi procedee prin care se precipită selectiv doar LDL (cu un amestec de heparină şi citrat de sodiu la pH 6,1). În acest caz LDL colesterol = colesterol total - colesterol din supernatant. Se poate de altfel considera că în marea majoritate a cazurilor o creştere a trigliceridelor coincide cu o creştere a VLDL (şi a fracţiunii electroforetice prebeta), pe când o creştere solitară a colesterolului atrage atenţia asupra creşterii LDL (şi respectiv a fracţiunii electroforetice beta).

În cele ce urmează se vor prezenta caracteristicile şi provenienţa principalelor componente lipidice ale lipoproteinelor.

1.1.3.1. TRIGLICERIDELE

Trigliceridele sunt esteri ai glicerolului cu acizi graşi. Sursa gliceridelor (tri, di sau mono) este fie exogenă din absorbţia lipidelor alimentare, fie endogenă, pornindu-se de la glicerol-3-fosfat şi acizi graşi activaţi (Acil-CoA). În ţesuturi ca ficatul, rinichiul şi glanda mamară sau mucoasa intestinală glicerol-3-fosfatul poate fi obţinut prin fosforilarea directă a glicerolului, deoarece ţesuturile amintite sunt dotate cu glicerokinază. Dacă această enzimă, care catalizează fosforilarea amintită, lipseşte sau este în cantitate redusă, ca de exemplu în musculatură sau în ţesutul adipos, glicerol-3-fosfatul se obţine dintr-un produs intermediar al glicolizei şi anume din dihidroxiacetonfosfat (39).

La rândul lor, acizii graşi care urmează a fi activaţi spre acil-CoA sub acţiunea tiokinazei, provin fie din lipidele alimentare, fie prin mobilizarea lor ţesutul adipos, fie prin sinteză endogenă în ficat din acetatul activat (acetil CoA), un produs intermediar provenit atât din metabolismul hidraţilor de carbon cât şi din aminoacizi. Sinteza de trigliceride pe seama hidraţilor de carbon este deosebit de acccentuată în cazul consumului de produse zaharoase (16), ceea ce explică accentuarea anumitor forme de hipertriglicerimie în condiţiile unui astfel de regim alimentar. Regimul amintit se asociază şi cu o creştere a activităţii fosfatidat-

fosfohidrolazei hepatice, sub acţiunea căreia are loc eliminarea unui radical fosfat din acidul fosfatidic, rezultând un diglicerid care apoi trece în triglicerid prin incorporarea unui acid gras activat. Astfel de observaţii sugerează posibilitatea inducerii enzimelor cu rol în sinteza hepatică a trigliceridelor (34).

De subliniat că ficatul şi ţesutul adipos constituie principalele producătoare de trigliceride, iar între trigliceridele, respectiv acizii graşi mobilizaţi din ţesutul adipos şi trigliceridele produse în ficat şi încorporate în VLDL există un permanent transfer bidirecţional (vezi pag. 21). Principalul rol al trigliceridelor este cel de stocare a energiei în ţesutul adipos şi de eliberare la nevoie a acizilor graşi care vor furniza energie prin catabolizare la nivelul musculaturii (39).

1.1.3.2. FOSFOLIPIDELE

Principalele fosfolipide din organism sunt: 1) fosfatidilcolina (lecitina) alcătuită din glicerol, doi acizi graşi, acid fosforic şi colina (o bază azotată trimetilată); 2) fosfatidiletanolamina (cefalina) conţinând etanolamină în locul colinei; 3) acidul fosfatidic lipsit de baza azotată; 4) fosfatidilserina conţinând serină (un aminoacid hidroxilat) în locul bazei azotate; 5) fosfatidilinozitol; 6) lizolecitinele în care glicerolul combinat cu fosforilcolina este esterificat doar cu un acid gras; 7) sfingomielinele, care prin hidroliză eliberează un acid gras, acid fosforic, colină şi, spre deosebire de celelalte fosfolipide, conţin sfingozină (un alcool complex aminat) în loc de glicerol (39).

Biosinteza majorităţii fosfolipidelor decurge oarecum în paralel cu cea a trigliceridelor până la etapa de acid fosfatidic sau de diglicerid. Din acest stadiu, în locul esterificării digliceridului cu un nou acid gras, ca în cazul trigliceridelor, are loc încorporarea grupărilor fosforilcolină, fosforiletanolamină sau fosforilinositol.

Fosfolipidele plasmatice, având grupări polare hidrofile, contribuie la menţinerea suspensiilor de lipide plasmatice (Vezi fig.1.1.). Există dovezi privitoare la existenţa unor schimburi rapide între fosfolipidele plasmatice şi cele din membrana plăcuţelor sanguine (15) şi desigur şi de la nivelul altor membrane, principalul rol fiziologic al fosfolipidelor fiind participarea lor la alcătuirea membranelor biologice. Pe de altă parte, eliberarea de acid arahidonic din fosfolipidele membranelor celulare, sub acţiunea fosfolipazei A_2 precum şi scindarea fosfatidilinozitolului difosfat sub acţiunea fosfolipazei C se soldează cu formarea unor agenţi chimici implicaţi în fluxul intracelular de calciu şi în activarea celulelor. Dezvoltarea acestor aspecte ale metabolismului fosfolipidelor ar depăşi însă scopul acestui subcapitol.

1.1.3.3. COLESTEROLUL

Organismul uman conţine aproximativ 2 g colesterol/kg greutate corporală, iar aproximativ 1-2% din acest colesterol este zilnic reînnoit. Sursa colesterolului din organism este atât exogenă, din colesterolul alimentar, cât şi endogenă, formându-se printr-un proces complex de sinteză care porneşte de la acetil-Co A.

Alimentele cele mai bogate în colesterol sunt cele de origine animală şi în special creierul (3 g colesterol/100 g aliment), gălbenuşul de ou (1.7 g/100 g, respectiv 0.25 g /ou), rinichii (0,35 g/100 g), ficatul(0,25 g /100 g), untul (0,3 g/100 g) şi grăsimea de porc (0,1 g/100 g).

Proporţia de colesterol absorbit depinde de cantitatea ingerată şi de conţinutul în trigliceride al dietei, acestea favorizând absorbţia colesterolului. Astfel, în cazul unei ingestii de 300 mg/zi absorbţia este de 50% (aproximativ 150 mg), creşterea colesterolului din raţia alimentară la 3000 mg se soldează cu o absorbţie de 10% (300 mg). Cu alte cuvinte, o

creştere de 10 ori a colesterolului alimentar se soldează doar cu o dublare a colesterolului absorbit.

Aşa cum se va vedea ulterior, legătura dintre colesterolul alimentar şi nivelul colesterolemiei este însă mult mai complexă şi depinde de măsura în care celulele hepatice îşi reduc numărul de receptori pentru LDL plasmatice, atunci când aceste celule sunt expuse unui aport crescut de colesterol absorbit din alimentaţie. Cea mai mare parte a colesterolului provine însă din sinteză endogenă (aproximativ 1 g/zi) care are loc aproape în toate ţesuturile, cele mai active organe fiind însă ficatul şi peretele intestinal (39).

Sinteza colesterolului porneşte de la acetil-CoA, iar prin condensarea progresivă a 3 astfel de molecule se ajunge la un compus cu şase atomi de carbon. Acest compus beta-hidroxi-beta-metil-glutaril-CoA (HMG-CoA) trece în mevalonat sub acţiunea enzimei HMG-CoA reductază (enzimă cheie în sinteza de colesterol). Într-o serie de etape ulterioare implicând fosforilări, decarboxilări şi condensarea a 6 unităţi izoprenoide se ajunge la un compus linear numit scualen. Prin închiderea la mai multe nivele a lanţului de atomi de carbon se formează cele patru inele caracteristice steroizilor (structură ciclopentanoperhidrofenantrenică). Primul astfel de compus este lanosterolul care trecând prin etapele intermediare de zimosterol şi de desmosterol ajunge la colesterol.

Este important de precizat că reglarea sintezei de colesterol are loc încă din etapele iniţiale şi anume la nivelul reacţiei catalizate de HMG-CoA reductază. Scăderea conţinutului de colesterol al celulei hepatice induce sinteza acestei enzime şi implicit creşterea producţiei de colesterol, iar aportul de colesterol şi respectiv o creştere a conţinutului de colesterol al hepatocitului reprimă sinteza de HMG-CoA reductază.

Pe de altă parte, creşterea conţinutului de colesterol al celulei hepatice duce la scăderea receptorilor celulari pentru LDL şi invers, sărăcirea hepatocitelor în colesterol induce o creştere a numărului de receptori şi implicit o accelerare a captării şi internalizării particulelor de LDL din plasmă care vor furniza colesterol celulelor. De fapt, colesterolul sintetizat în ficat este încorporat în lipoproteine mai ales VLDL şi LDL şi trimis sub această formă ţesuturilor care utilizează colesterol pentru formarea membranelor celulare, iar la nivelul suprarenalelor şi glandelor sexuale pentru sinteza de hormoni steroizi.

Transportul în revers de la ţesuturi spre ficat se efectuează mai ales prin intermediul HDL (Vezi pag.34).

Întrucât organismul nu posedă sisteme enzimatice care să asigure degradarea structurii ciclopentanoperhidrofenantrenice, îndepărtarea colesterolului din organism se efectuează mai ales în ficat prin transformarea lui în acizi biliari care se elimină împreună cu sterolii neutri prin bilă şi fecale. O fracţiune mult mai redusă a colesterolului se îndepărtează după transformarea acestuia în hormoni steroizi a căror metaboliţi se excretă apoi prin urină (6,8,9,39,51).

1.1.4. MECANISME IMPLICATE ÎN TRANSPORTUL PLASMATIC AL LIPIDELOR

În esenţă, transportul lipidelor plasmatice se realizează pe următoarele căi:

a. Transportul lipidelor absorbite la nivelul intestinului se realizează sub formă de chilomicroni.

b. Transportul de lipide mobilizate din rezervele ţesutului adipos se efectuează sub formă de acizi graşi liberi (AGL) fixaţi pe albuminele serice.

c. Lipidele sintetizate în ficat sunt trimise ţesuturilor extrahepatice sub formă de lipoproteine (mai ales VLDL şi LDL).

d.Transportul colesterolului de la țesuturile extrahepatice la ficat se realizează printr-un mecanism ce implică lipoproteinele dense (HDL) și enzima lecitin: colesterol acil-transferază (LCAT).

1.1.4.1. TRANSPORTUL SUB FORMĂ DE CHILOMICRONI

Doar aproximativ un sfert din trigliceridele alimentare din tractul digestiv sunt hidrolizate complet până la acizi grași și glicerol sub acțiunea lipazei pancreatice. De fapt, principalii produși de digestie a grăsimilor sunt monogliceridele care sunt total hidrolizate doar după ce au pătruns în celulele mucoasei intestinale. Tot în celulele intestinale are loc o resinteză a trigliceridelor pornindu-se fie de la gliceridele parțiale (mono- și digliceride) fie de la alfaglicerofosfat care se esterifică cu acizii grași activați (acil-CoA). Acești acizi grași pot proveni și prin mobilizarea din țesutul adipos al subiectului, astfel încât trigliceridele trecute de mucoasa intestinală diferă într-o oarecare măsură de cele alimentare din lumenul intestinal. La trigliceridele astfel sintetizate se adaugă mici cantități de fosfolipide și de colesterol precum și proteine (respectiv apo B_{48} și în mai mică măsură apo A-I, apo A-II și apo-A-IV). Deși reprezintă doar 1-2% din masa particulei de chilomicroni aceste apoproteine sunt esențiale pentru formarea chilomicronilor, iar inhibarea sintezei de proteine cu puromicină duce la oprirea formării chilomicronilor și la acumularea de grăsimi în celulele mucoasei intestinale.

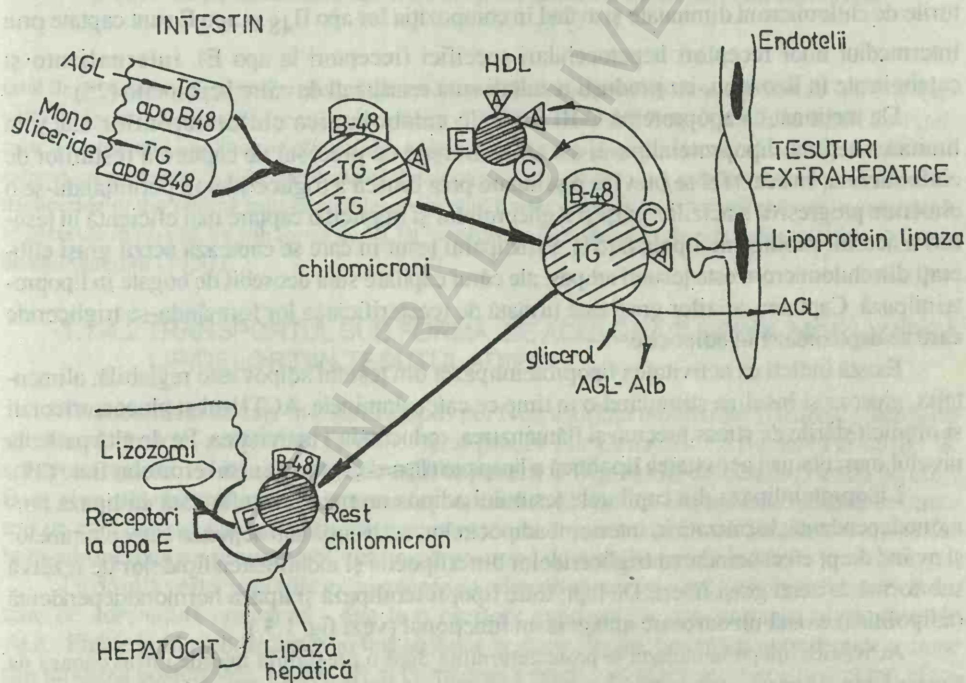


Fig.1.2. Transportul trigliceridelor de origine alimentară prin formarea și catabolizarea chilomicronilor. De remarcat transferul de apoproteine C și E din HDL spre chilomicroni, atacul lipolitic exercitat de lipoproteinlipază la nivelul endoteliilor și în cele din urmă captarea și degradarea resturilor de chilomicroni în ficat. Detalii în text.

Chilomicronii "în stare născândă", formați în mucoasa intestinală, trec în vasele limfatice ajungând apoi prin canalul toracic în sânge unde determină un oarecare grad de lactescență postprandială. De notat că acizii grași cu mai puțin de 10 atomi de carbon nu participă la formarea chilomicronilor și se absorb mai ales pe calea sângelui portal (39).

Chilomicronii ajunși în sânge sunt supuși următoarelor procese:

a. schimburi neenzimatice cu lipidele și mai ales cu apoproteinele din HDL;

b. hidroliza trigliceridelor sub acțiunea lipoproteinlipazei;

c. captarea "resturilor" de chilomicroni de către hepatocite prin intermediul unor receptori specifici (receptori apo B_{48} apo E, cunoscuți și sub termenul de receptori pentru apo E).

Așa cum se vede din fig.1.2., chilomicronii ajunși în plasmă captează apoproteine C și E provenite din HDL. Apo C-II este un important cofactor al lipoproteinlipazei și potențează activitatea acestei enzime localizată la nivelul endoteliilor vasculare (mai ales capilare). Sub acțiunea lipoproteinlipazei, având drept cofactor apo C-II, are loc hidroliza trigliceridelor și reducerea masei chilomicronilor, iar paralel cu acest proces o bună parte a apoproteinelor A și a apoproteinelor C părăsesc particulele de chilomicroni fiind recaptate în HDL (7). Resturile de chilomicroni, de dimensiuni mult reduse, pătrund în spațiile Disse ajungând apoi în contact cu hepatocitele. La acest nivel are loc un nou atac hidrolitic efectuat de lipaza hepatică care duce la îndepăratea unei noi cantități de trigliceride și fosfolipide. În cele din urmă resturile de chilomicroni diminuate și având în compoziția lor apo B_{48} și apo E sunt captate prin intermediul unor receptori hepatocelulari specifici (receptori la apo E), internalizate și catabolizate în lizozomi, iar produșii rezultați sunt reutilizați de către hepatocite (25).

De meționat că apoproteina C-III întârzie catabolizarea chilomicronilor atât prin limitarea acțiunii lipoproteinlipazei cât și interferând cu procesul de captare a resturilor de chilomicroni. În acest fel se previne o scindare prea bruscă a trigliceridelor, permițându-se o eliberare progresivă a acizilor grași și a glicerolului și implicit o captare mai eficientă în țesuturi a acestor produși de lipoliză (51). Principalul țesut în care se captează acizii grași eliberați din chilomicroni este țesutul adipos, ale cărui capilare sunt deosebit de bogate în lipoproteinlipază. Captarea acizilor grași este urmată de reesterificarea lor formându-se trigliceride care se depozitează în adipocite.

Există indicii că activitatea lipoproteinlipazei din țesutul adipos este reglabilă, alimentația, glucoza și insulina stimulând-o în timp ce catecolaminele, ACTH-ul și glucocorticoizii și implicit stările de stress precum și flămânzirea, reducându-i activitatea. Pe de altă parte, la nivelul musculaturii activitatea lipolitică a lipoproteinlipazei crește în cursul efortului fizic (39).

Lipoproteinlipaza din capilarele țesutului adipos nu trebuie confundată cu lipaza hormonodependentă, localizată în interiorul adipocitelor, activabilă sub acțiunea catecolaminelor și având drept efect scindarea trigliceridelor din adipocite și mobilizarea lipidelor de rezervă sub formă de acizi grași liberi. De fapt, între lipoproteinlipază și lipaza hormonodependentă (adipolitică) există un oarecare antagonism funcțional (vezi fig. 1.3.).

Activitatea lipoproteinlipazei se poate determina după o prealabilă injecție intravenoasă de heparină, care desprinde enzima de pe suprafața endoteliilor, unde aceasta se află ancorată prin filamente de proteoglicani. Activitatea enzimei trecute în plasmă se evaluează pe baza eliberării de acizi grași liberi și glicerol dintr-un substrat de trigliceride standard. În realitate această activitate lipolitică postheparinică a plasmei nu se datorează doar lipoproteinlipazei, ci și altor enzime lipolitice, cum sunt lipaza hepatică și unele fosfolipaze. Spre deosebire de acestea, lipoproteinlipaza este inhibată de către sul-

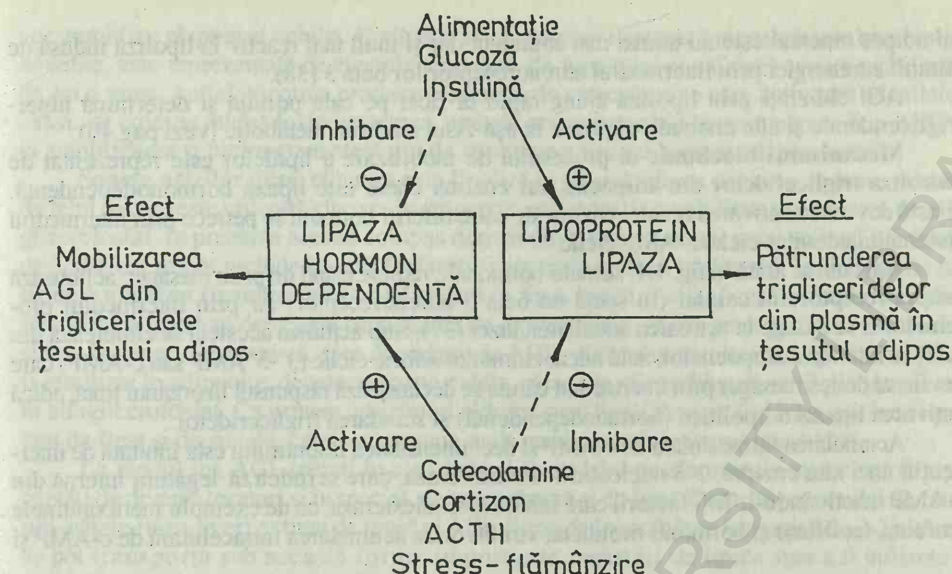


Fig.1.3. Antagonismul funcțional între lipoproteinlipază și lipaza hormonodependentă.

fatul de protamină. Subiecții cu deficit genetic sever de lipoproteinlipază sau deficit de apo C II dezvoltă o hipertrigliceridemie severă cu creșterea chilomicronilor (HLP-tip I). Deficite destul de exprimate ale activității lipolitice postheparinice se întâlnesc în cursul hiperlipidemiei alcoolicilor, în diabetul zaharat cu acidocetoză și în unele cazuri de hipotiroidism. De notat că mecanismele de îndepărtare a trigliceridelor din plasmă sunt saturabile, ele putând fi ușor depășite în cazul unei pătrunderi sporite de trigliceride in plasmă fie sub formă de VLDL produse în ficat, fie prin absorbția din intestin sub formă de chilomicroni (10,51).

1.1.4.2. TRANSPORTUL SUB FORMĂ DE ACIZI GRAȘI LIBERI. MOBILIZAREA LIPIDELOR DIN ȚESUTUL ADIPOS

Trigliceridele stocate în țesutul adipos pot fi cu ușurință mobilizate și trimise țesuturilor sub formă de acizi grași liberi (AGL). Acest proces este deosebit de intens în condiții de solicitare sporită, ca de exemplu în cursul expunerii la frig, în caz de flămânzire sau de efort fizic, și se află sub controlul mecanismelor superioare de reglare. Impulsurile centrale se transmit pe calea sistemului simpatic, iar simpatectomia chimică, respectiv blocarea receptorilor beta-adrenergici cu propranolol, limitează procesul de mobilizare a lipidelor.

Pe de altă parte, injecțiile intravenoase de adrenalină sau fumatul - care produce o descărcare de adrenalină endogenă - duc la o creștere exprimată a concentrației plasmatice de AGL. Efecte lipid mobilizatoare au fost atribuite și glucagonului, precum și unor peptide extrase din hipofiza posterioară, iar ACTH și cortizonul exercită un efect permisiv, potențând efectul catecolaminelor (39).

Grăsimea intraabdominală (omentală) este mai susceptibilă la efectul lipidmobilizator al catecolaminelor, decât țesutul adipos subcutanat de pe coapse sau de pe fese (femural și gluteal). De notat că în cazul obezității abdominale (androide) întâlnită mai des la bărbați, țesu-

tul adipos omental este nu numai mai abundent dar şi mult mai reactiv la lipoliza indusă de stimuli adrenergici prin intermediul adrenoreceptorilor beta 3 (38).

AGl eliberaţi prin lipoliză ajung rapid la ficat pe cale portală şi determină hipertrigliceridemie şi alte anomalii cuprinse în aşa-zisul sindrom metabolic (vezi pag.40).

Mecanismul biochimic al procesului de mobilizare a lipidelor este reprezentat de hidroliza trigliceridelor din adipocite, iar enzima cheie este lipaza hormonodependentă. Există dovezi că activarea acestei enzime de către diferiţi hormoni se petrece prin intermediul sistemului adenilat-ciclază-AMP ciclic.

Aşa cum se arată în fig. 1.4. stimulii hormonali, reprezentând un prim mesager, acţionează asupra receptorului celular (în speţă un beta 3-adrenoreceptor) iar prin intermediul proteinelor G se ajunge la activarea adenilatciclazei (37). Sub acţiunea acesteia se eliberează din ATP, în interiorul adipocitelor, acid adenozinmonofosforic ciclic (3'-5' AMP sau c-AMP) care devine al doilea mesager prin intermediul căruia se declanşează răspunsul în organul ţintă, adică activarea lipazei adipolitice (hormondependentă) şi scindarea trigliceridelor.

Acumularea intracelulară de c-AMP şi deci intensitatea răspunsului este limitată de intervenţia unei alte enzime, 3-5 nucleotid-fosfodiesteraza, care scindează legătura internă din c-AMP inactivându-l. Toţi factorii care inhibă fosfodiesteraza, ca de exemplu metilxantinele (cafeina, teofilina) şi hormonii tiroidieni, vor favoriza acumularea intracelulară de c-AMP şi

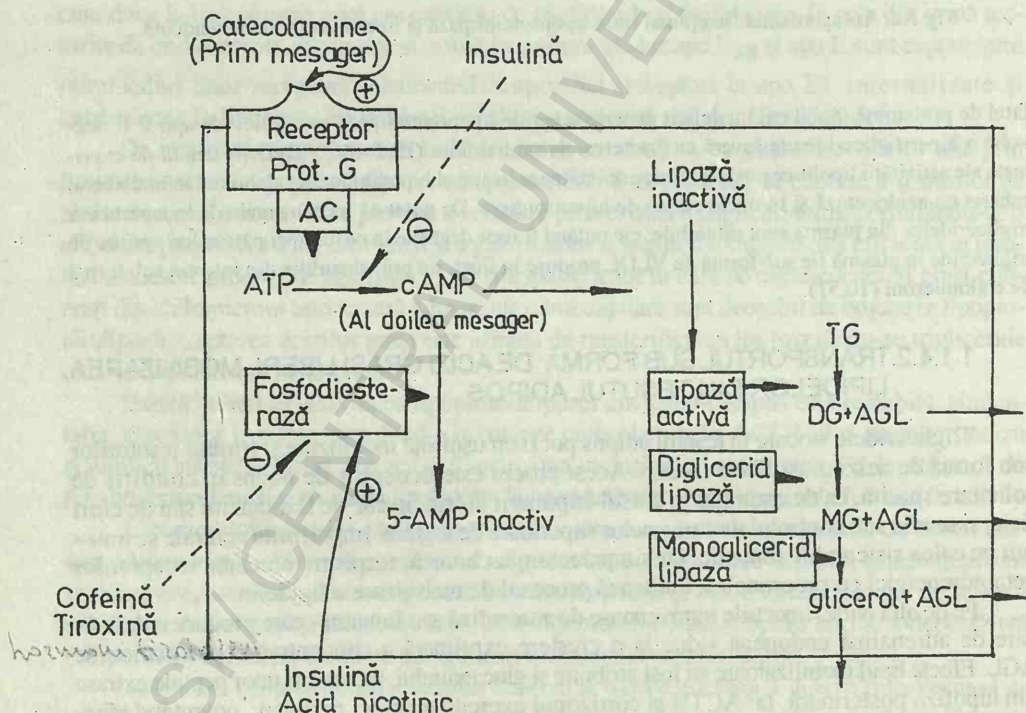


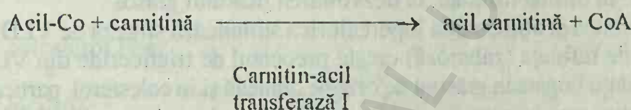
Fig.1.4. Reprezentare simplificată a intervenţiei sistemului adenilciclază (AC) - Adenozinmonofosfat ciclic (cAMP) în mobilizarea acizilor graşi din trigliceridele ţesutului adipos.
AGL = acizi graşi liberi; TG = trigiceride; DG = digliceridă; MG = monoglicerid. Săgeata plină însoţită de ⊕ indică efect stimulator; săgeata întreruptă însoţită de ⊖ arată efect inhibitor.

vor amplifica răspunsul celulei. O situaţie obişnuită care ilustrează mecanismele biochimice amintite, este reprezentată de efectele sinergice ale fumatului şi cafeinei asupra mobilizării de acizi graşi. Astfel, nicotina produce o secreţie de catecolamine care activează adenilatciclaza, iar cofeina inhibă fosfodiesteraza, ambele procese ducând la acumularea de c-AMP şi la amplificarea şi prelungirea efectului de stimulare a lipazei hormonodependente.

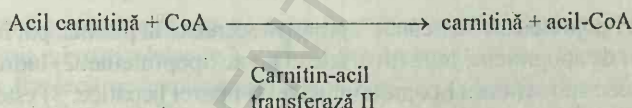
Soarta acizilor graşi eliberaţi prin lipoliză în ţesutul adipos depinde, în mare măsură, de felul în care este utilizată glucoza în adipocite, respectiv de posibilitatea producerii de alfaglicerofosfat. În prezenţa acestui compus derivat din glicoliză, acizii graşi activaţi sub formă de acil-CoA se pot include în acid fosfatidic care trece apoi în triglicerid. În deficite de utilizare a glucozei (inaniţie sau diabet) şi deci în lipsa formării alfaglicerofosfatului sau dacă intensitatea lipolizei depăşeşte capacitatea de reesterificare, acizii graşi părăsesc adipocitele şi trec în sânge. De notat că, spre deosebire de AGL, glicerolul rezultat din lipoliză nu poate fi reutilizat în adipocite, deoarece aceste celule, sărace în glicerokinază, nu îl pot transforma în alfaglicerofosfat. Ca urmare, glicerolul eliberat prin lipoliză trece în sânge, putând fi preluat de ficat şi de rinichi, care sunt organe mult mai bogate în glicerokinază (39).

La rândul lor, AGL trecuţi în circulaţie şi fixaţi labil pe albuminele serice vor fi rapid captaţi de diverse ţesuturi şi în special, de musculatură şi de ficat. Datorită procesului de reîmprospătare (turn-over) extrem de rapid al AGL (timp de înjumătăţire biologică de 2-3 minute) se pot transporta sub această forma importante cantităţi de lipide spre a fi utilizate în scopuri energetice. Aşa de exemplu, în caz de flămânzire şi expunere la frig, plasma poate transporta până la 500 g grăsimi în decurs de 24 ore (39).

După pătrunderea lor în celule acizii graşi sunt activaţi spre acil CoA, iar pătrunderea acestor forme activate în mitocondrii şi respectiv accesul la sistemul enzimatic al beta-oxidării sunt condiţionate de formarea unor complexe tranzitorii cu carnitina (beta-hidroxi-gama-trimetilamoniu butirat). Procesul este catalizat de enzima carnitin-palmitil transferază aflată pe suprafaţa externă a membranei mitocondriale interne (1).



După traversarea membranei mitocondriale, carnitina şi acil-CoA sunt regenerate conform reacţiei:



Întrucât procesul mai sus amintit are loc mai ales în musculatură (mare consumatoare de AGL şi care este deosebit de bogată în carnitină) deprimarea reacţiei arătate mai sus cauzată fie de un deficit de enzimă, fie de o lipsă de carnitină, se soldează cu o perturbare severă a proceselor de oxidare a acizilor graşi, având drept consecinţă o miopatie caracterizată prin infiltrarea cu trigliceride a musculaturii scheletice. Un oarecare deficit secundar de carnitină a fost semnalat în unele cazuri la pacienţii cu insuficienţă renală supuşi la hemodializă cronică. În rarele cazuri cu deficit genetic de carnitin-aciltransferază fenomenele sunt mai severe, iar infiltrarea cu trigliceride capătă un caracter extins, afectând adeseori miocardul şi ficatul şi evoluând cu o creştere a trigliceridelor plasmatice. De fapt, acizii graşi neutilizaţi în musculatură ajung în ficat care îi încorporează în trigliceride care sunt secretate apoi sub formă de VLDL realizând o hiperlipoproteinemie tip IV.

O astfel de hipertrigliceridemie poate surveni de altfel şi în alte situaţii, mai frecvent întâlnite, ca de exemplu în cazul unor subiecţi cu obezitate androidă (intraabdominală) sedentari şi supuşi la repetate stări de stress (38). A se vedea Addendum la finele acestui capitol.

1.1.4.3. TRANSPORTUL DE LIPIDE ÎNCORPORATE ÎN LIPOPROTEINE

Transportul de lipide încorporate în lipoproteine include următoarele aspecte: 1) sinteza şi secreţia lipoproteinelor; 2) modificări suferite de lipoproteinele circulante în plasmă sub acţiunea unor enzime şi prin transferul neenzimatic de lipide şi apoproteine între diferitele clase de lipoproteine; 3) captarea lipoproteinelor la nivelul unor receptori celulari urmată de internalizarea şi degradarea lor; 4) transportul de colesterol de la ţesuturile extrahepatice spre ficat în vederea eliminării prin bilă.

1.1.4.3.1. Sinteza şi secreţia de lipoproteine

Ficatul reprezintă principalul loc de sinteză a lipoproteinelor, la această sinteză contribuind într-o mult mai mică măsură şi celulele mucoasei intestinale. Hepatocitele sintetizează mai ales VLDL şi HDL, procesul implicând următoarele etape: 1) sinteza componentelor lipidice (trigliceride, fosfolipide, colesterol); 2) sinteza apoproteinelor în reticulul endoplasmatic rugos; 3) formarea legăturilor între apoproteine şi componentele lipidice în reticulul endoplasmatic neted; 4) transportul particulelor lipoproteice prin citoplasma hepatocitelor sub formă de vezicule şi deversarea acestor particule în torentul circulator.

Secreţia de VLDL poate fi perturbată de o serie de factori cum sunt: a) inhibarea sintezei de proteine (prin puromicină, cicloheximidă, actinomicină D); b) interferenţa cu procesul de cuplare a apoproteinelor cu componentele lipidice (exces de acid orotic, deficit de colină); c) limitarea funcţionalităţii sistemelor microtubulare ale celulei (de exemplu prin colchicină). Toţi aceşti factori pot duce, în ultimă instanţă, la dezvoltarea ficatului grăsos.

Pe de altă parte, obezitatea şi alimentaţia hipercalorică stimulează sinteza de VLDL. O alimentaţie bogată în glucide rafinate (zaharoză) creşte procentul de trigliceride din VLDL, pe când în urma unei alimentaţii bogate în grăsimi de origine animală şi în colesterol, particulele de VLDL vor deveni relativ mai bogate în colesterol şi esteri de colesterol (16,25,45). Mecanismele care reglează sinteza de HDL sunt mai puţin bine elucidate.

1.1.4.3.2. Modificări suferite de lipoproteine în plasmă

Modificări suferite de lipoproteinele "născânde", proaspăt secretate în plasmă, pot fi astfel sistematizate: 1) transfer de apoproteine între diversele clase de lipoproteine; 2) hidroliza trigliceridelor din lipoproteine sub acţiunea lipoproteinlipazei şi lipazei hepatice; 3) esterificarea colesterolului sub acţiunea lecitin-colesterol aciltransferazei; 4) transferul neenzimatic de colesterol, esteri de colesterol, fosfolipide şi chiar de trigliceride între diversele clase de lipoproteine.

Aşa cum se vede din fig.1.5, la scurt timp de la pătrunderea lor în torentul circulator, particulele născânde de VLDL prevăzute doar cu apo B_{100} şi urme de apo E, adiţionează apoproteine C (C II, C III) şi apo E din HDL. Sub acţiunea lipoproteinlipazei având drept cofactor apo C II, conţinutul de trigliceride se reduce, în timp ce proporţia relativă de colesterol liber şi de fosfolipide creşte, astfel încât pelicula de la suprafaţa particulei de VLDL devine mai densă şi limitează contactul miezului de trigliceride cu lipoproteinlipaza. Colesterolul şi fos-

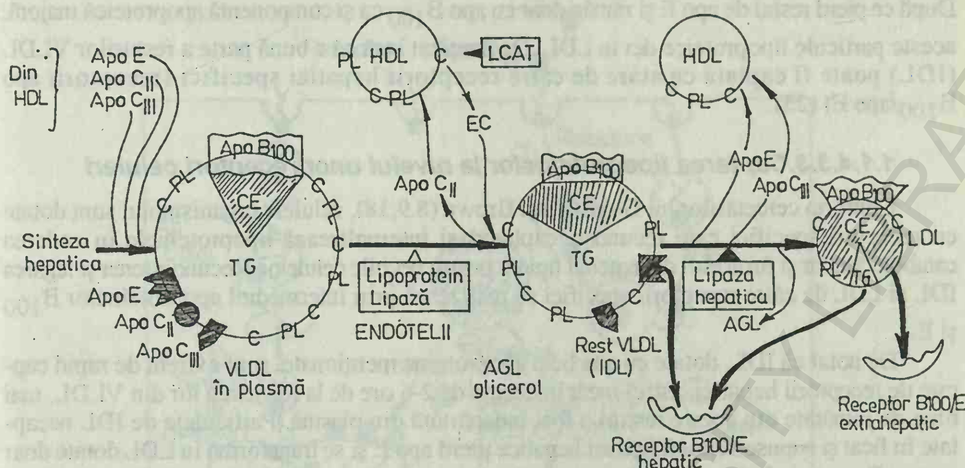
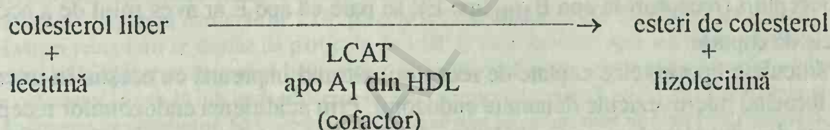


Fig.1.5. Modificări suferite de VLDL în plasmă. De notat că VLDL "în stare născândă", adică proaspăt secretate de ficat achiziționează apo E și apo C din HDL, iar după ce suferă atacul lipolitic al lipoproteinlipazei și efectele mediate prin intermediul LCAT și HDL, cedează progresiv apo C și apo E înapoi spre HDL, astfel încât LDL rămâne doar cu apo B_{100}. De remarcat scăderea progresivă a conținutului de trigliceride și creșterea proporției de esteri de colesterol. Acizii grași eliberați în "cascada delipidării" sunt captați mai ales în țesutul adipos.

folipidele de la suprafața VLDL sunt la rândul lor în bună parte îndepărtate prin intervenția sistemului HDL-LCAT (lecitincolesterol aciltransferază) conform reacției:



$$\text{colesterol liber} + \text{lecitină} \xrightarrow[\text{apo } A_1 \text{ din HDL (cofactor)}]{\text{LCAT}} \text{esteri de colesterol} + \text{lizolecitină}$$

Întrucât apo A_1 cofactorul reacției catalizate de LCAT se află în HDL, formarea esterilor de colesterol arătată mai sus are loc în HDL, iar acești esteri hidrofobi se transferă spre miezul particulelor de VLDL și LDL prin intermediul unei proteine de transfer. Pe de altă parte, lizolecitina rezultată sub acțiunea LCAT, este solubilă și părăsește lipoproteina fixându-se pe albumine. Transferul neenzimatic al esterilor de colesterol din HDL spre VLDL se asociază cu un transfer în sens invers a unor cantități variabile de trigliceride și fosfolipide. Ca urmare a proceselor enzimatice catalizate de lipoproteinlipază și LCAT și prin transferul de lipide mai sus amintite, particulele de VLDL pierd trigliceride, fosfolipide și colesterol liber, crescând însă conținutul lor în esteri de colesterol (6,51).

Paralel are loc o deplasare a unei importante părți a apoproteinelor C și E din VLDL înapoi spre HDL. Rămâne astfel un "rest VLDL" de dimensiuni mult reduse, cunoscut și sub termenul de lipoproteină intermediară (IDL) cu migrare electroforetică mai apropiată de beta- decât de prebeta - și conținând aproape numai apo B_{100} și apo E, precum și urme de apo C-III. Aceste "resturi VLDL" (IDL) pătrund în spațiile Disse, unde în contact cu lipaza hepatică sunt supuse unui nou atac lipolitic care mai îndepărtează din trigliceridele și fosfolipidele rămase.

După ce pierd restul de apo E şi rămân doar cu apo B_{100} ca şi componentă apoproteică majoră, aceste particule lipoproteice devin LDL. De precizat însă că o bună parte a resturilor VLDL (IDL) poate fi captată ca atare de către receptorii hepatici specifici (receptorii apo B_{100}/apo E) (25).

1.1.4.3.3.Captarea lipoproteinelor la nivelul unor receptori celulari

Conform cercetărilor lui Goldstein şi Brown (8,9,18), celulele organismului sunt dotate cu receptori specifici care recunosc, captează şi internalizează lipoproteinele în vederea catabolizării lor şi furnizării de material lipidic pentru nevoile celulelor. Recunoaşterea şi legarea IDL şi LDL de către receptorii specifici se realizează prin intermediul apoproteinelor B_{100} şi E.

De notat că IDL, dotate cu amebele apoproteine menţionate, sunt extrem de rapid captate de receptorii hepatici, astfel încât în decurs de 2-6 ore de la formarea lor din VLDL, mai bine de jumătate din aceste resturi a fost îndepărtată din plasmă. Particulele de IDL necaptate în ficat şi supuse acţiunii lipazei hepatice pierd apo E şi se transformă în LDL dotate doar cu apo B_{100} şi având o afinitate mai redusă pentru receptori, astfel încât persistă în circulaţie aproximativ 60 de ore înainte de a fi complet îndepărtate din circulaţie prin captare în receptorii din ficat şi din alte ţesuturi.

Resturile de chilomicroni prevăzute cu apo E şi apo B_{48} nu sunt recunoscute de receptorii care captează IDL şi LDL, îndepărtarea lor efectuându-se graţie unor receptori diferiţi, localizaţi doar în hepatocite şi numiţi receptori la apo E.

Rezultă din cele relatate mai sus că lipoproteinele de origine exogenă (resturi de chilomicroni) conţinând apo B_{48} sunt dirijate spre anumiţi receptori (receptori de apo E), în timp ce lipoproteinele din surse endogene (resturi VLDL, LDL) dotate cu apo B_{100} se leagă de alţi receptori (receptori la apo B_{100}/apo E); se pare că apo E ar avea rolul de a accelera procesele de captare.

Particulele lipoproteice captate de receptori pătrund împreună cu aceştia în interiorul celulei formând microvezicule denumite endozomi. Prin acidifierea endozomilor receptorul se desface din complexul cu particula lipoproteică şi este reciclat spre suprafaţa celulei, pe când restul din vezicule conţinând particula lipoproteică va fuziona cu lizozomii. În interiorul veziculei nou-constituite, particulele lipoproteice sunt supuse acţiunii unor hidrolaze care descompun apoproteinele până la stadiul de acizi aminaţi, iar din esterii de colesterol se eliberează colesterol care va fi utilizat pentru elaborarea de noi membrane. La nivelul unor celule specializate, colesterolul extras din LDL îndeplineşte şi alte roluri: în corticosuprarenale, ovare şi testicule este convertit în hormoni steroizi, iar în ficat va fi transformat în acizi biliari.

În general, colesterolul eliberat din LDL într-o celulă este în măsură să moduleze economia colesterolului intracelular prin următoarele procese: 1) reduce sinteza de colesterol a celulei, reprimând sinteza de HMG-CoA reductază, enzima cheie în biosinteza sterolilor; 2) activează enzima acil-CoA-colesterol aciltransferază (ACAT) care reesterifică colesterolul făcând posibilă stocarea sub formă de esteri de colesterol; 3) declanşează un mecanism de feedback negativ oprind elaborarea de noi receptori pentru LDL (Fig. 1.6).

Există dovezi că numărul de receptori apo B_{100}/apo E este reglabil în funcţie de conţinutul în colesterol al celulei. Acest număr creşte atunci când nevoile de colesterol ale

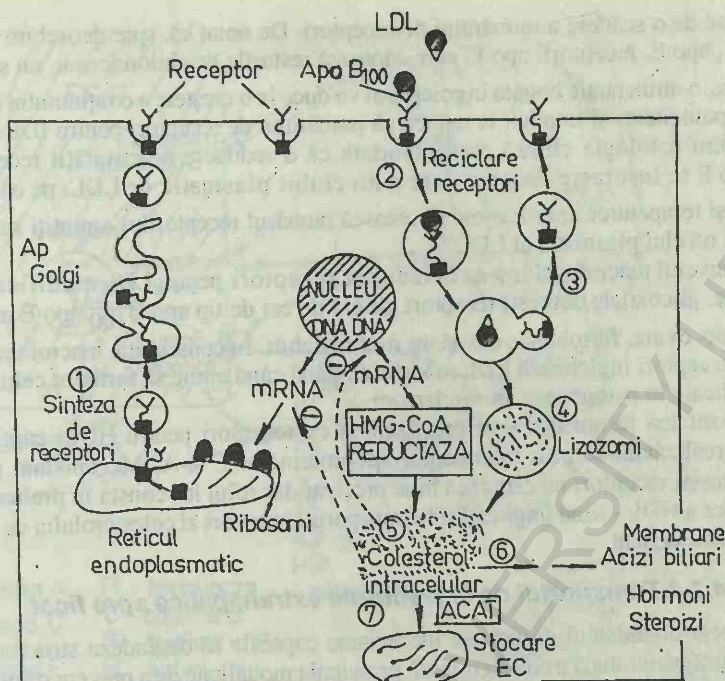


Fig. 1.6. Producţia de receptori pentru LDL (receptori apo B_{100}/apo E) şi reglarea acestora în funcţie de conţinutul în colesterol al celulelor. 1) Nevoi sporite de colesterol ale celulei induc sinteza de receptori în reticulul endoplasmatic rugos. Aceştia sunt procesaţi în aparatul Golgi şi ajung la suprafaţa celulei. 2). Receptorii captează particule de LDL pe care le internalizează sub formă de vezicule. În interiorul citoplasmei receptorii se desfac de particula de LDL şi sunt reciclaţi spre suprafaţa celulei, 3) în timp ce particula de LDL este degradată în lizozomi, 4) "eliberând" colesterol neesterificat în celulă; 5) aportul de colesterol în celulă inhibă producerea de noi receptori şi reprimă HMG-CoA reductaza şi deci sinteza endogenă de colesterol; 6) Colesterolul furnizat prin receptori este utilizat pentru sinteza de membrane, iar în unele celule specializate, pentru producerea de acizi biliari (ficat) sau de hormoni steroizi (suprarenale, glande sexuale); 7) excesul de colesterol este esterificat sub acţiunea acil-CoA-colesterol acil transferazei (ACAT) şi stocat sub formă de esteri (EC).

celulelor cresc, ca de exemplu în cursul diviziunilor, precum şi în cazul sporirii producţiei de acizi biliari sau hormoni steroizi derivaţi din colesterol. Producţia de astfel de receptori creşte şi în cazul reducerii aportului alimentar de colesterol sau a inhibării enzimei HMG-CoA reductază şi implicit a reducerii sintezei endogene de colesterol.

Drenajul biliar repetat, rezecţiile de ileon sau administrarea de colestiramină, care împiedică reabsorbţia de acizi biliari, precum şi administrarea de hormoni tiroidieni care accelerează transformarea colesterolului în acizi biliari, se asociază de asemenea cu o creştere a numărului de receptori. În esenţă, toate situaţiile menţionate mai sus se asociază cu o reducere a conţinutului de colesterol al celulei, ceea ce constituie stimulul pentru creşterea producţiei de receptori apo B_{100}/apo E.

Dimpotrivă, creşterea conţinutului de colesterol al celulei hepatice, ca de exemplu în cazul unei alimentaţii bogate în colesterol, infuzia de acizi biliari şi deficitul de hormoni tiroidieni

se însoţesc de o scădere a numărului de receptori. De notat că, spre deosebire de receptorii apo B_{100}/apo E, receptorii apo E, care captează resturile de chilomicroni, nu sunt reglabili. Ca urmare, o alimentaţie bogată în colesterol va duce la o creştere a conţinutului în acest compus al hepatocitelor şi implicit la reducerea numărului de receptori pentru IDL şi LDL.

Pentru patologia clinică este important că o reducere a activităţii receptorilor apo B_{100}/apo E se însoţeşte de o creştere a nivelului plasmatic de LDL, pe când măsurile dietetice şi terapeutice care reuşesc să crească numărul receptorilor amintiţi sunt în măsură să reducă nivelul plasmatic al LDL.

La nivelul macrofagelor s-au evidenţiat receptori pentru LDL modificate (oxidate, malonilate, glicozilate). Aceşti receptori, diferă de cei de tip apo B_{100}/apo E aflaţi în ficat, suprarenale, ovare, fibroblaste etc. şi nu sunt reglabili. În consecinţă, macrofagele dotate cu astfel de receptori înglobează LDL modificate până când ajung să formeze celule spumoase fiind implicate în patogeneza aterosclerozei.

Majoritatea ţesuturilor sunt prevăzute şi cu receptori pentru HDL, captarea acestor particule realizându-se prin intermediul apoproteinelor E şi A. Mecanismul prin care se reglează aceşti receptori nu este încă bine precizat dar rolul lor constă în preluarea încărcăturii lipidice a HDL - fiind implicaţi şi în transportul în revers al colesterolului de la ţesuturile extrahepatice la ficat.

1.1.4.3.4.Transportul de la ţesuturile extrahepatice spre ficat

Întrucât organismul nu posedă mecanisme capabile să degradeze structura ciclopentanoperhidrofenantranică a colesterolului, principala modalitate de a preveni o supraîncărcare cu colesterol constă în eliminarea acestuia prin bilă, fie ca atare, fie mai ales sub formă de acizi biliari. Transformarea colesterolului în hormoni steroizi şi eliminarea în urină a metaboliţilor acestor hormoni constituie o cale de importanţă minoră din punct de vedere cantitativ pentru economia colesterolului.

Scoaterea excesului de colesterol din ţesuturile extrahepatice şi transportul lui spre ficat se realizează printr-un mecanism complex în care intervin HDL, LCAT şi proteina de transfer a esterilor de colesterol (vezi fig. 1.7).

Întrucât particulele de HDL recent secretate sunt relativ mai sărace în colesterol şi mai bogate în fosfolipide decât membranele celulare, ele vor prelua cu uşurinţă colesterol de la suprafaţa celulelor. În felul acesta creşte însă raportul colesterol/fosfolipide din HDL, astfel încât capacitatea acestor particule de a mai capta colesterol din membranele celulare este mult mai redusă. Intervenţia LCAT, în prezenţa apo A_1 cu rol de cofactor, transformă însă colesterolul liber din HDL în esteri de colesterol conform reacţiei arătate anterior (vezi pag 23). Esterii de colesterol astfel formaţi sunt mai hidrofobi şi trec spre miezul particulei de HDL, iar o bună parte din aceşti esteri este transferată spre VLDL, IDL şi LDL prin intermediul unei proteine de transfer. Concomitent, particulele acceptă în schimb trigliceride, fosfolipide şi colesterol liber din VLDL şi IDL. Ca urmare a acestor procese HDL "născânde" de formă discoidală trec într-o formă globuloasă mai încărcată cu lipide, notată HDL_2 (densitate 1,063-1,125). Ajunse la nivelul ficatului aceste particule îşi descarcă din încărcătura lipidică, în speţă esteri de colesterol, iar sub acţiunea lipazei hepatice se mai îndepărtează şi din trigliceridele (preluate din VLDL). Ca urmare a descărcării sarcinii de lipide, particulele de HDL_2 (densitate 1,063-1,125) trec într-o formă mai densă HDL_3 (densitate 1,125-1,21). De notat că HDL_3 îşi pot relua funcţia de captare a colesterolului liber din membranele celulare şi de a facilita transformarea acestuia în esteri de colesterol sub acţiunea LCAT conform celor relatate mai sus. În acest fel par-

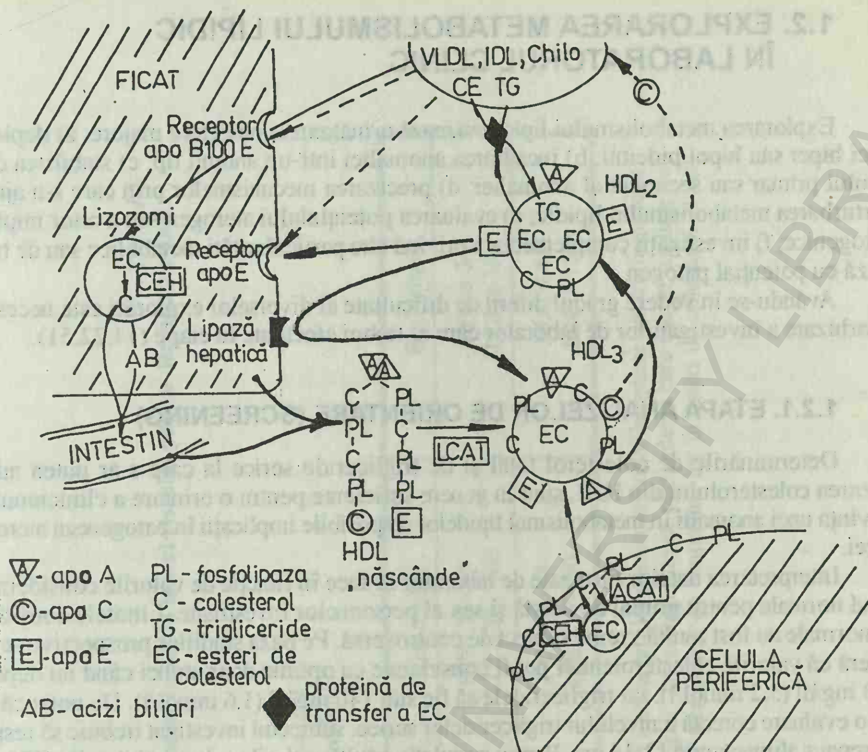


Fig. 1.7. Rolul HDL şi LCAT în procesul de transport al colesterolului de la ţesuturi spre ficat (transport în revers). Particulele discoidale de HDL "în stare născândă" secretate de ficat şi intestin devin sferice în plasmă sub acţiunea LCAT care transformă C în EC, iar lecitina (PL) în lizolecitină; EC trec spre miezul hidrofob al particulei de HDL care astfel mai poate prelua C din membrana celulelor periferice. Îmbogăţirea în C şi mai apoi în EC ($HDL_3 \rightarrow HDL_2$) se însoţeşte de achiziţia de apo E de origine tisulară. Particulele de HDL_2 încărcate cu lipide (mai ales EC) sunt captate în ficat prin receptori la apo E. În lizozomi EC $\rightarrow$ C sub acţiunea colesterilesterhidrolazei (CEH). C se elimină prin bilă ca atare sau după o prealabilă transformare în acizi biliari (AB). Se arată şi posibilitatea ca, prin intermediul unei proteine de transfer, o parte din EC să treacă din HDL_2 în VLDL, LDL sau chilomicroni precum şi posibilitatea reconvertirii HDL_2 spre HDL_3 sub acţiunea lipazei hepatice şi a descărcării sarcinii de lipide din HDL_2 în hepatocite.

ticulele de HDL_3 se încarcă cu lipide, îşi reduc densitatea şi devin HDL_2. După câteva astfel de cicluri particula de HDL (în speţă HDL_2) este captată prin intermediul unor receptori din hepatocite fiind apoi internalizată şi degradată. Esterii de colesterol descărcaţi în hepatocite sunt hidrolizaţi în acizi graşi şi colesterol, care este transformat, în cea mai mare parte, în acizi biliari, aceştia eliminându-se prin bilă împreună cu fosfolipide şi cu o anumită proporţie de colesterol liber. Acest transport "in revers" de colesterol de la ţesuturi spre ficat are mare importanţă pentru prevenirea acumulărilor de colesterol în ţesuturi şi pentru diminuarea riscului de ateroscleroză (6,39,51).

1.2. EXPLORAREA METABOLISMULUI LIPIDIC ÎN LABORATORUL CLINIC

Explorarea metabolismului lipidic vizează următoarele obiective majore: a) depistarea unei hiper sau hipolipidemii; b) încadrarea anomaliei într-un anumit tip; c) stabilirea caracterului primar sau secundar al anomaliei; d) precizarea mecanismelor prin care s-a ajuns la perturbarea metabolismului lipidic; e) evaluarea potențialului aterogen sau a altor implicații patogenice; f) investigații complementare privind alte particularități metabolice sau de hemostază cu potențial patogen.

Avându-se în vedere gradul diferit de dificultate al diverselor explorări este necesară o ierarhizare a investigațiilor de laborator care ar trebui efectuate în etape (14,22,51).

1.2.1. ETAPA ANALIZELOR DE ORIENTARE (SCREENING)

Determinările de colesterol total și de trigliceride serice la care s-ar putea adăuga dozarea colesterolului din HDL sunt în genere suficiente pentru o orintare a clinicianului în privința unei anomalii în metabolismul lipidelor cu posibile implicații în patogeneza aterosclerozei.

Interpretarea datelor furnizate de laborator se face în funcție de valorile considerate ca fiind normale pentru grupul de vârstă și sex al persoanelor investigate. Limitele considerate ca normale au fost multă vreme subiect de controversă. Pe baza studiilor prospective se consideră că valorile colesterolemiei pot fi considerate ca optime doar atunci când nu depășesc 200 mg/dl (5,2 mmol/l), iar trigliceridele să fie sub 140 mg/dl (1,6 mmol/l). De notat că pentru o evaluare corectă a nivelului trigliceridelor serice, subiectul investigat trebuie să respecte un repaus alimentar de 12-14 ore. Pentru populația adultă, valorile colesterolului din HDL considerate ca fiind în limite normale oscilează între 35-70 mg/dl la bărbați și între 45-85 mg/dl la femei (vezi tab 1.3). Atunci când nivelul trigliceridelor nu depășește 400 mg/dl (4,5 mmol/l) și se pot exclude tipurile III și V de hiperlipoproteinemie se poate calcula colesterolul din LDL conform formulei:

LDL colesterol = colesterol total - [(Trigliceride/5) + HDL colesterol]

Reamintim că în cele mai multe cazuri colesterolul din VLDL (în mg/dl) se obține împărțind la 5 valoarea trigliceridelor serice (în mg/dl). Valorile optime ale colesterolului din LDL ar oscila între (70-130 mg/dl). Atunci când se constată o hiperlipidemie se recomandă efectuarea electroforezei în gel de agaroză a lipoproteinelor spre a se preciza care clasă de lipoproteine este anormal crescută. Valorile procentuale considerate ca fiind în limite normale oscilează între 25-35% pentru alfa-lipoproteine, 15-25% pentru fracțiunea prebeta și 45-55% în cazul betalipoproteinelor. Interpretarea corectă a foreogramei lipoproteinelor serice se poate face doar în funcție de valorile trigliceridelor și colesterolului spre a se putea evalua valoarea absolută a diferitelor fracțiuni (în mg/lipide/ fracțiune/dl). O apreciere orientativă a lipidelor totale se poate obține din formula:

Lipide totale (mg/dl) = colesterol total x 2,25+90+trigliceride

În tabelul 1.3 se prezintă o schemă cu caracter de orientare privind interpretarea unor explorări de rutină a lipidelor și lipoproteinelor serice în sensul riscului de ateroscleroză coronariană.

Tabel 1.3.

Interpretarea unor parametri ai lipidelor şi lipoproteinelor serice în sensul riscului pentru dezvoltarea unei coronaropatii. Valorile sunt prezentate ca mg/dl

1.colesterol < 200
 trigliceride < 200 risc scăzut
2.colesterol > 300 risc crescut
3. colesterol 200-300 | risc în funcţie de comportarea HDL
 trigliceride > 200 | colesterolului şi LDL colesterolului

	Risc redus	Risc mediu	Risc crescut
Bărbaţi	HDL ≥ 55 LDL ≤ 130	HDL 35 - 55 LDL 130 - 160	HDL ≤ 35 LDL ≥ 160
Femei	HDL ≥ 65 LDL ≤ 130	HDL 45 -65 LDL 130-160	HDL ≤ 45 LDL ≥ 160

Observaţii: Conform unor date recente din literatură (22) şi a observaţiilor personale, valorile optime ale trigliceridelor ar trebui să se situeze sub 170 mg/dl şi chiar sub 140 mg/dl, iar aterogenitatea particulelor care conţin trigliceride depinde de mărimea particulelor (cele mai mici sunt mai aterogene), de conţinutul lor în esteri de colesterol şi de compoziţia în apoproteine.

1.2.2. ETAPA ANALIZELOR COMPLEMENTARE

Determinarea de rutină a apoproteinelor întâmpină încă dificultăţi. Există însă studii care atribuie o mare importanţa pentru patogeneza aterosclerozei, scăderii nivelului plasmatic de apo A-I şi creşterii apo B_{100}. În mod implicit **scăderea raportului apo A-I/apo B** ar reflecta mai fidel riscul pentru ateroscleroză coronariană, decât determinările de colesterol total, HDL-colesterol, sau de trigliceride (22,51). De asemenea creşterea raportului apo B/colesterol indică prezenţa de lipoproteine mai dense şi de dimensiuni mai reduse cu un accentuat potenţial aterogen.

Se acordă de asemenea o deosebită importanţă **determinărilor de Lp (a)** care constituie un factor de risc independent, favorizând ateroscleroza chiar în cazul unor valori relativ normale ale colesterolemiei (vezi pag 18).

O contribuţie esenţială la înţelegerea anomaliilor metabolismului lipidic a fost adusă de **studiile privind procesele de reîmprospătare (turn-over) ale lipoproteinelor plasmatice**. Astfel de studii efectuate în centre specializate implică o marcare prealabilă "in vitro" cu ^{125}I a lipoproteinelor separate prin ultracentrifugare. După injectarea acestor lipoproteine marcate în apo B_{100} se urmăreşte timpul de înjumătăţire biologică a lipoproteinelor radioactive. S-a putut astfel stabili că în hipercolesterolemia familială (tip IIa) timpul de înjumătăţire în plasmă a LDL este de 2 ori mai lung decât la normali (9,31).

Pentru marcarea trigliceridelor se injectează i.v. glicerol marcat care se încorporează "in vivo" în trigliceridele din VLDL, urmărindu-se apoi dispariţia progresivă a radioactivităţii plasmei. Urmărirea vitezei de remaniere a colesterolului se bazează pe injectarea de ^{14}C-colesterol sau ^{3}H-colesterol urmărindu-se apoi scăderea radioactivităţii plasmatice şi apariţia radioizotopului în acizii biliari sau în sterolii din bilă şi din scaun. Astfel de explorări permit consideraţii asupra mecanismului de producere al unei hiperlipoproteinemii. De exemplu în cazul unei hiperlipoproteinemii evoluând cu o viteză de îndepărtare redusă (turn-over încetinit) se poate presupune că nivelul crescut al lipoproteinelor este o consecinţă a deficitului uneia din etapele proceselor de catabolizare sau de captare a lipoproteinelor. Dimpotrivă, dacă în ciuda unei viteze de reîmprospătare normale sau chiar accelerate (T/2 relativ scurt) se constată un oarecare grad de hiperlipemie, se poate afirma că producţia excesivă de lipoproteine constituie principalul mecanism patogenetic (16,45) (vezi fig.1.8).

Întrucât astfel de explorări sunt greu de efectuat în practica medicală, merită semnalate observaţiile conform cărora stările caracterizate prin accelerarea sintezei hepatice din VLDL (obezitate, sindrom nefrotic) se asociază cu o creştere a activităţii colinesterazei serice, un indicator fidel al funcţiei proteosintetice a ficatului.

Creşterea marcată a gama-glutamintransferazei (γ GT) la un subiect cu hiperlipemie atrage atenţia asupra alcoolismului cronic, iar dacă există şi o creştere evidentă a fosfatazei alcaline şi a acizilor biliari, diagnosticul se va orienta spre un proces de colestază (14).

Fără a atinge valorile excesiv de ridicate întâlnite la alcoolici, activitatea γ-GT este adeseori moderat crescută la subiecţii hipertrigliceridemici care nu consumă alcool fiind în aceste cazuri o expresie a unei steatoze hepatice şi a unei stimulări a sintezei hepatice de proteine şi lipoproteine.

O astfel de stimulare a sintezei hepatice de proteine ar putea contribui la explicarea creşterii nivelelor plasmatice ale unor enzime şi proteine implicate în hemostază. De fapt, concentraţia plasmatică a unor proteaze serinice dependente de vitamina K (protrombina, factor VII, factor X, Proteina C) precum şi nivelul factorului XIII stabilizator al fibrinei, al fibronectinei şi a inhibitorilor fibrinolizei sunt mai ridicate la subiecţii supraponderali şi hipertrigliceridemici decât la subiecţii normoponderali şi normolipemici (15).

Întrucât hiperlipidemiile (mai ales hipertrigliceridemiile asociate supragreutăţii) se însoţesc adeseori cu scăderea toleranţei la glucoză, cu creşterea rezistenţei la efectele insulinei şi cu creşterea uricemiei, aceste aspecte ar trebui investigate la subiecţii mai sus menţionaţi.

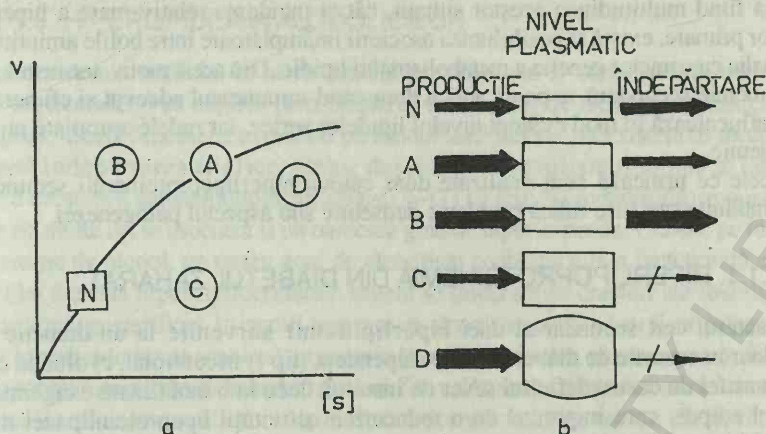


Fig.1.8. Reprezentarea schematică a diverselor posibilităţi de instalare a unei hipertrigliceridemii. a) Relaţia între concentraţia trigliceridelor plasmatice (S) pe abscisă şi viteza de sinteză a VLDL (V). b) Variate posibilităţi de asociere între viteza de sinteză a trigliceridelor din VLDL şi posibilităţile de îndepărtare a acestora din plasmă.

Întrucât capacitatea de îndepărtare a trigliceridelor este limitată (saturabilă), creşterea vitezei lor de sinteză se însoţeşte de o concentraţie plasmatică crescută în majoritatea cazurilor de hiperlipidemie familială combinată (mai des fenotipurile II b şi IV) din grupul A.

Atunci când sinteza accelerată se asociază de o deosebit de eficientă îndepărtare, nivelul trigliceridelor se modifică doar în mică măsură (grupul B incluzând cazuri de obezitate la copil şi la femeia tânără, precum şi în unele cazuri de hipertiroidism).

Deficitul de îndepărtare (grupul C) predomină în cazuri de hipotiroidism şi în unele cazuri de hipertrigliceridemie familială (fenotipurile I, IV sau V).

Asocierea unei sinteze accelerate cu un deficit de îndepărtare (grupul D) se poate întâlni în sindromul nefrotic şi în unele anomalii poligenice în metabolismul trigliceridelor.

1.3. ANOMALII ALE METABOLISMULUI LIPIDIC

Atât hiper cât şi hipolipoproteinemiile pot avea un caracter primar sau secundar unor diverse îmbolnăviri. Cunoaşterea stărilor patologice care pot duce la dereglări cu caracter secundar ale metabolismului lipidic poate contribui la elucidarea unor mecanisme prin care se poate ajunge la creşteri sau la scăderi ale concentraţiei plasmatice a lipoproteinelor.

1.3.1. HIPERLIPIDEMII ŞI HIPOLIPIDEMII SECUNDARE

Creşteri ale lipidelor serice pot surveni în condiţii extrem de variate cum sunt: diabetul zaharat, alcoolismul, sindromul nefrotic, insuficienţă renală cronică, hipotiroidismul, guta, obstrucţii ale căilor biliare, utilizarea anticoncepţionalelor orale, acromegalia, sindromul Cushing, boala Addison, glicogenozele, unele porfirii, unele hiperimunoglobulinemii monoclonale, unele colagenoze, intoxicaţia cu vitamina D şi chiar unele stări septice cu germeni Gramm negativi. Terapia cu beta-blocante şi cu hidroclorotiazide poate duce şi ea la creşteri ale lipidelor serice (10,51).

Dată fiind multitudinea acestor situaţii, cât şi incidenţa relativ mare a hiperlipoproteinemiilor primare, există şi posibilitatea asocierii întâmplătoare între bolile amintite mai sus şi o anomalie cu caracter genetic a metabolismului lipidic. Din acest motiv, termenul de hiperlipoproteinemie secundară se poate aplica doar când tratamentul adecvat şi eficient al bolii de bază influenţează în mod evident nivelul lipidelor serice, iar rudele apropiate nu prezintă hiperlipidemie.

În cele ce urmează sunt analizate doar câteva hiperlipoproteinemii secundare mai frecvent întâlnite sau care ridică probleme deosebite sub aspectul patogenezei.

1.3.1.1. HIPERLIPOPROTEINEMIA DIN DIABETUL ZAHARAT

Caracterul cert secundar al unei hiperlipidemii survenite la un diabetic poate fi susţinut doar în cazurile de diabet insulinodependent (tip I) necontrolat, evoluând cu acidocetoză. În astfel de cazuri deficitul sever de insulină duce la o mobilizare exagerată a AGL din ţesutul adipos, care împreună cu o reducere a activităţii lipoproteinlipazei duce la o importantă hipertrigliceridemie.

În cazurile de diabet zaharat de tip II (noninsulinodependent) nu se poate stabili o legătură directă între gradul de intoleranţă la hidraţii de carbon şi nivelul lipidelor serice. În astfel de cazuri perturbarea metabolismului lipidic pare a fi mai degrabă o consecinţă a supragreutăţii şi a unei rezistenţe crescute la acţiunea insulinei. Aşa cum s-a arătat anterior (vezi pag. 28)ţesutul adipos intraabdominal (visceral sau omental) este deosebit de susceptibil la acţiunea catecolaminelor iar în cazurile de obezitate androidă cu o astfel de dispoziţie a ţesutului adipos se mai adaugă o reactivitate crescută a beta-3 receptorilor adrenergici. Ca urmare, un mai mare flux de AGL ajunge rapid pe cale portală la ficat, unde sunt transformaţi în trigliceride încorporate în VLDL. Totodată se reduce captarea şi inactivarea insulinei în hepatocite, ajungându-se la o creştere a insulinemiei care de asemenea stimulează sinteza de VLDL. Datorită însă creşterii ţesutului adipos şi a unei rezistenţe crescute a ţesuturilor periferice faţă de acţiunea insulinei, se ajunge şi la o perturbare a utilizării glucozei. De multe ori astfel de diabetici cu supragreutate sunt şi hipertensivi şi prezintă hiperuricemie. Astfel de boli asociate descrise de Moga în urmă cu 40 de ani, (43) sunt cunoscute şi sub numele de sindrom metabolic (sindrom X sau sindrom Reaven). A se vedea Addendum la finele acestui capitol.

1.3.1.2. HIPERLIPIDEMIA DIN SINDROMUL NEFROTIC

Pierderile urinare de proteine şi hipoalbuminemia consecutivă duc la o scădere a presiunii coloidosmotice, ceea ce reprezintă un important stimul pentru sinteza hepatică de proteine şi de lipoproteine. Ca urmare, în majoritatea cazurilor de sindrom nefrotic se constată o creştere a colesterolemiei şi a trigliceridelor serice care este cu atât mai evidentă cu cât proteinuria este mai severă. Hiperlipidemia nefroticilor se asociază de regulă cu o creştere a activităţii colinesterazei serice, o enzimă secretată de ficat, denotând o accelerare a sintezei hepatice de proteine. De notat că, spre deosebire de albumine, colinesteraza serică având o greutate moleculară de 340.000 nu se pierde prin urină. Remisiunea sindromului nefrotic sau corectarea hipoalbuminemiei prin infuzia de albumină duce la normalizarea spectrului lipidic demostrându-se astfel caracterul secundar al hiperlipidemiei nefroticilor.

1.3.1.3. HIPERLIPIDEMIA ALCOOLICILOR

Hiperlipidemia întâlnită în unele cazuri de alcoolism şi caracterizată mai ales prin creşterea trigliceridelor se explică prin creşterea mobilizării de AGL şi încetinirea oxidării acizilor graşi, aceste fenomene evoluând pe fondul unui deficit preexistent al mecanismelor care asigură îndepărtarea trigliceridelor din plasmă. Alcoolismul cronic se însoţeşte de regulă de o creştere a gamaglutamiltransferazei (γ-GT) o enzimă inductibilă produsă în hepatocite, iar de multe ori se asociază şi un oarecare grad de hiperuricemie. Uneori, pe fondul unui consum cronic de alcool, un puseu acut de alcoolism poate duce la o lactescenţă tranzitorie a plasmei,iar aceasta hipertrigliceridemie severă se însoţeşte de creşteri ale fosfolipidelor şi a colesterolului neesterificat. În cazuri mai rare de alcoolism evolând cu ficat grăsos (steatoză hepatică) hiperlipidemia se asociază cu anemie hemolitică şi icter, precum şi cu suferinţa pancreasului, aceste manifestări alcătuind sindromul Zieve. De notat că instalarea unei ciroze atrofice la un alcoolic duce la o scădere a lipidelor serice sub valorile serice ale normalilor. În aproximativ 20% a **cazurilor de pancreatită acută** se depistează o hipertrigliceridemie severă care survine de cele mai multe ori în legătură cu un abuz de alcool şi de lipide alimentare, adesea pe fondul unui consum cronic de alcool. În patogeneza hipertrigliceridemiei asociată unei pancreatite acute se incriminează şi o lipoliză a ţesutului adipos peripancreatic ducând la o creştere a fluxului de acizi graşi spre ficat. În orice caz, încetarea consumului de alcool şi de grăsimi şi alimentarea parenterală duc la o scădere rapidă a trigliceridelor şi la normalizarea spectrului lipoproteinelor serice (vezi fig.1.9). De notat că severitatea hipertrigliceridemiei, survenită în cazurile de pancreatită acută depinde de preexistenţa unui deficit cu caracter familial în procesul de îndepărtare a trigliceridelor.

Există şi date conform cărora un consum moderat de alcool ar duce la creşteri ale HDL, cu rol de limitare a aterogenezei. Noţiunea de "consum moderat" este însă insuficient precizată, iar rolul unui astfel de consum în prevenirea aterosclerozei nu este încă pe deplin dovedit.

1.3.1.4. HIPERLIPIDEMIA DIN HIPOTIROIDISM

Hiperlipidemia mixedematoşilor se manifestă de regulă prin creşterea colesterolemiei şi, în special, a LDL-colesterolului şi se datorează unei reduceri a numărului de receptori pentru IDL şi LDL şi, implicit, unei încetiniri în procesul de captare şi catabolizare a acestor lipoproteine. Totodată este limitată transformarea colesterolului în acizi biliari.

Mobilizarea de AGL din ţesutul adipos şi sinteza de trigliceride nu sunt crescute fiind mai degrabă diminuate, dar, din cauza unui deficit al mecanismelor de îndepărtare a trigliceridelor din plasmă (activitatea lipoproteinlipazei şi mai ales a lipazei hepatice mult reduse), nivelul trigliceridelor serice poate creşte. Caracteristica principală a hiperlipidemiei din hipotiroidism este deci o încetinire a procesului de turn-over al lipoproteinelor. Terapia cu hormoni tiroidieni normalizează spectrul lipoproteinelor plasmatice, fapt care constituie de altfel un test de eficacitate a medicaţiei aplicate (vezi fig.1.9).

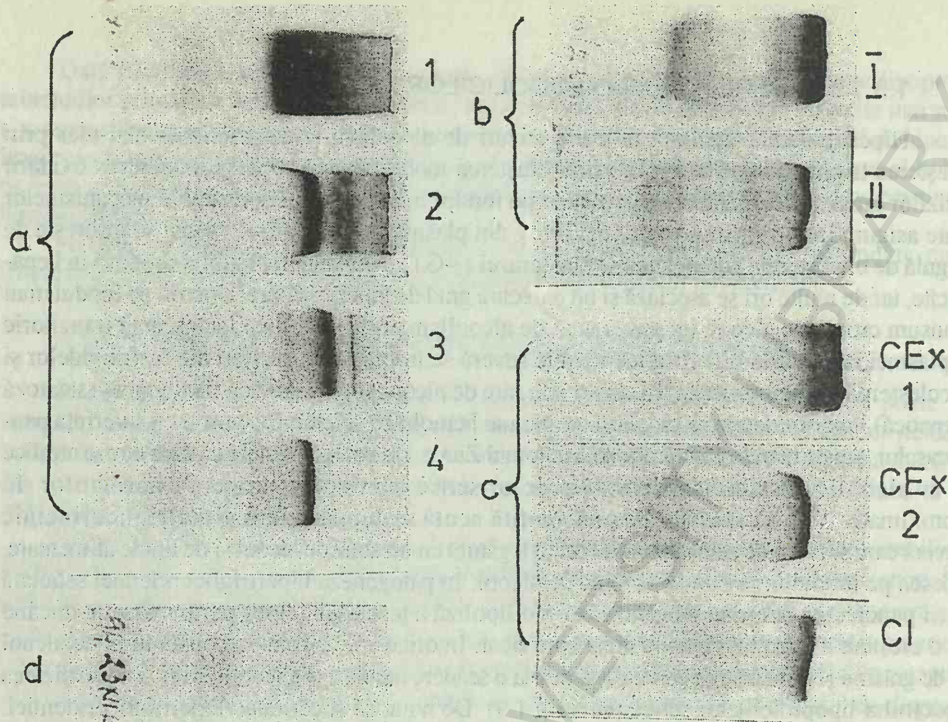


Fig. 1.9. Anomalii cu caracter secundar ale lipoproteinelor serice:
a) **Evoluţia spectrului lipoproteinelor serice într-un caz de pancreatită acută** la un alcoolic: 1) în primele 24 ore trigliceride 40 mmol/l (3500 mg/dl); 2) la 48 ore de la debutul clinic: trigliceride 17 mmol/l (1487 mg/dl); 3) în ziua a 3-a trigliceride 6 mmol/l (525 mg/dl); 4) după 14 zile trigliceride 2 mmol/l (174 mg/dl). Normalizarea tipului HLP V este precedată de aspecte intermediare caracterizate printr-o fracţiune beta lărgită şi apariţia unei benzi relativ bine delimitată cu migrarea postbeta.
b) **Comportarea lipoproteinelor serice într-un caz de hipotiroidism** înainte (I) şi după trei săptămâni de tratament substitutiv cu hormoni tiroidieni II). Colesterolemia scade de la 360 mg/dl (9,36 mmol/l) la 220 mg/dl (5,72 mmol/l).
c) **Anomalii ale lipoproteinelor serice în cursul colestazei** CEx 1 - colestază extrahepatică la un bolnav cu carcinom de cap de pancreas. De notat apariţia unei fracţiuni cu migrare postbeta (lipită de beta) şi care s-a dovedit a fi LpX; CEx 2 - normalizarea lipidogramei la 6 săptămâni de la efectuarea unei anastomoze biliodigestive; Ci colestază intrahepatică (ciroză biliară); de remarcat apariţia unei benzi cu migrare postalfa).
d) **hipobetalipoproteinemie secundară** la un bolanav cu sindrom de malabsorbţie survenit în cadrul unui limfom al plăcilor Peyer din intestin.

1.3.1.5. HIPERLIPEDIMIA DIN COLESTAZĂ

Limitarea eliminării prin bilă a colesterolului liber şi a fosfolipidelor, în caz de obstrucţie a căilor biliare, duce la creşterea acestor lipoizi în plasmă şi la formarea unor complexe lipoproteice particulare, cunoscute sub denumirea de lipoproteina X (LpX). La electroforeză în agaroză a lipoproteinelor, LpX migrează înapoia beta-lipoproteinelor, de care se diferenţiază însă cu greu, în schimb, la electroforeză în gel de agar, LpX este singura lipoproteină care

migrează spre polul negativ şi poate fi evidenţiată prin precipitarea în gel sub acţiunea unor polianioni şi a unor cationi bivalenţi (de exemplu dextran sulfat şi $CaCl_2$). Dozări cantitative de LpX sugerează că nivelul acestei lipoproteine anormale este mai crescut în colestaza extrahepatică (icter mecanic) decât în colestaza intrahepatică. În caz de colestază intrahepatică (de exemplu în colestaza din ciroza biliară) se evidenţiază însă o lipoproteină cu migrarea alfa încetinită (vezi fig.1.9.).

Valoarea diagnostică a lipidelor şi lipoproteinelor în sindroamele colestatice este însă redusă în comparaţie cu creşterile deosebit de exprimate ale acizilor biliari, fosfatazei alcaline şi gama-glutamiltransferazei.

1.3.1.6. HIPERLIPIDEMII ASOCIATE HIPERIMUNOGLOBULINEMIILOR

Deşi excepţional de rare, hiperlipoproteinemiile asociate unor hiperimunoglobulinemii (de exemplu în mielomul multiplu şi ocazional în colagenoze) prezintă un interes teoretic, denotând posibilitatea intervenţiilor proceselor imune în mecanismele care reglează metabolismul lipoproteinelor.

În unele cazuri imunoglobulinele pot afecta funcţia lipoproteinlipazei formând complexe fie cu enzima fie cu apo C-II, cofactorul enzimei.

În alte cazuri, imunoglobulinele pot bloca apoproteinele care constituie "unităţi de recunoaştere" (markeri) prin intermediul cărora receptorii celulari captează şi internalizează lipoproteinele. S-au descris astfel două cazuri de mielom multiplu în care imunoglobulinele (într-un caz IgA, iar în altul IgG) au format complexe cu apo B_{100} sau cu apo E ceea ce a dus la o încetinire marcată a vitezei de catabolizare a resturilor de VLDL (IDL) şi la creşterea acestor lipoproteine în serul bolnavilor.

1.3.1.7. HIPOLIPIDEMII SECUNDARE

Aceste modificări au o importanţă diagnostică redusă. De notat că nou născuţii prezintă o hipolipidemie fiziologică, dar valorile colesterolemiei de aproximativ 70 mg/dl (1,8 mmol/l) şi respectiv al trigliceridelor în jur de 20 mg/dl (0,23 mmol/l) găsite la naştere cresc brusc în cursul primei săptămâni de viaţă, iar la aproximativ 4 luni se stabilesc în jurul mediei pentru grupa de vârstă de până la 9 ani (150 mg/dl pentru colesterol şi 60 mg/dl pentru trigliceride).

Hipertiroidismul sever evoluează cu o scădere a colesterolemiei şi a beta-lipoproteinelor datorită accelerării procesului de captare şi degradare a particulelor de LDL precum şi prin favorizarea transformării colesterolului în acizii biliari; caracteristică este intensificare procesului de reîmprospătare (turnover) a lipoproteinelor.

Scăderea sintezei de lipoproteine se întâlneşte în **denutriţia cronică**, în **sindroamele de malabsorbţie**, în **anemii severe** şi bineînţeles în **insuficienţa hepatică avansată**. În cirozele decompensate scade şi procentul de colesterol esterificat datorită cel puţin în parte deficitului de LCAT, enzimă secretată de ficat şi responsabilă de esterificarea colesterolului în plasmă. Problema comportării lipidelor şi lipoproteinelor serice în afecţiunile hepatice este însă mult mai complexă. Aşa de exemplu, bolile hepatice evoluând cu colestază exprimată pot evolua cu hipercolesterolemie (vezi pag. 42) iar perturbarea sintezei unor apoproteine poate afecta procesele de clearance şi de captare intracelulară a lipoproteinelor. Ilustrativă în acest sens este comportarea lipoproteinelor serice în cursul **terapiei cu L-asparaginază a leucemiilor**, când se ajunge la o reducere marcată a sintezei hepatice de proteine (13). Se produce o scădere marcată a colesterolemiei (adesecori sub 100 mg/dl) şi a fracţiunii electroforetice alfa, în timp ce fracţiunile prebeta şi beta îşi pierd structura şi se întind ca o trenă spre locul de aplicare a serului (aspect datorat probabil scăderii raportului între lipide şi apoproteine). Scăderea apoproteinei

C-II ar putea astfel explica creşterile trecătoare de trigliceride observate, uneori, în cursul terapei cu L-asparaginază, ca şi în unele cazuri de hepatită acută.

Un mecanism patogenetic particular este reprezentat de hipolipidemia survenită la bolnavii cu **leucemia acută mieloblastică**. În astfel de cazuri s-a incriminat o captare accelerată a LDL la nivelul receptorilor de pe suprafaţa mieloblastelor, fenomen pus în legătură cu o creştere a utilizării colesterolului pentru formarea membranelor acestor celule în plină proliferare (12, 56).

1.3.2. DEREGLĂRI CU CARACTER PRIMAR ÎN METABOLISMUL LIPOPROTEINELOR

Deşi astfel de anomalii sunt cauzate de mutaţii, afectând receptorii celulari, apoproteinele sau enzimele implicate în metabolismul lipidic, factorii genetici nu pot explica în totalitate aspectele clinice şi de laborator depistate, iar, în multe cazuri, factorii de mediu (alimentaţie, mod de viaţă) contribuie în mare măsură la dezvoltarea acestor aspecte.

O clasificare ideală a anomaliilor afectând lipoproteinele serice ar trebui să se bazeze pe cunoaşterea defectului molecular care stă la baza respectivei anomalii. De fapt, progresele realizate în ultimii ani au creat premizele unei astfel de clasificări. Înainte de a încerca o clasificare patogenetică, este util de a prezenta clasificarea propusă de Fredrickson, Levy şi Lees (19) şi care este încetăţenită în laboratoarele clinice, fiind bazată pe evaluarea creşterii unei anumite fracţiuni electroforetice a lipoproteinelor serice (vezi fig.1.10). De notat că diversele mutaţii se pot solda fie cu hiperlipoproteinemii, fie cu scăderi patologice ale anumitor lipoproteine.

1.3.2.1. HIPERLIPOPROTEINEMII CU CARACTER FAMILIAL

1.3.2.1.1. Creşterea chilomicronilor (HLP tip I)

Anomalia se caracterizează prin creşterea excesivă a trigliceridelor serice (de regulă peste 1000 mg/dl, respectiv peste 11 mmol/l) în timp ce colesterolemia prezintă valori variate putând fi chiar normală. Electroforeza lipoproteinelor serice evidenţiază creşterea chilomicronilor, iar plasma răcită la +4^{o}C şi centrifugată se smântâneşte formând un strat superior de chilomicroni, infranatantul rămânând clar.

Mecanismul de producere este reprezentat de o perturbare a proceselor care asigură îndepărtarea trigliceridelor din plasmă după absorbţia lor din intestin, iar defectul molecular constă fie într-un deficit genetic de lipoproteinlipază, fie printr-un deficit de apo C-II (cofactorul lipoproteinlipazei).

Anomalia se transmite printr-un mecanism autosomal recesiv, manifestările clinice şi de laborator apărând doar la homozigoţi. Ca urmare, acest tip de hiperlipoproteinemie survine destul de rar.

Hiperchilomicronemia nu este aterogenă, dar subiecţii afectaţi pot prezenta atacuri de pancreatită acută şi dureri abdominale survenite la o vârstă tânără. În unele cazuri survin şi xantoame eruptive (mici noduli galbeni pruriginoşi pe tegumente), hepatosplenomegalie şi impregnarea cu lipide a retinei (lipemia retinalis). Hipertrigliceridemia şi fenomenele asociate se ameliorează în urma restrângerii lipidelor alimentare la 10-20 g/zi (51).

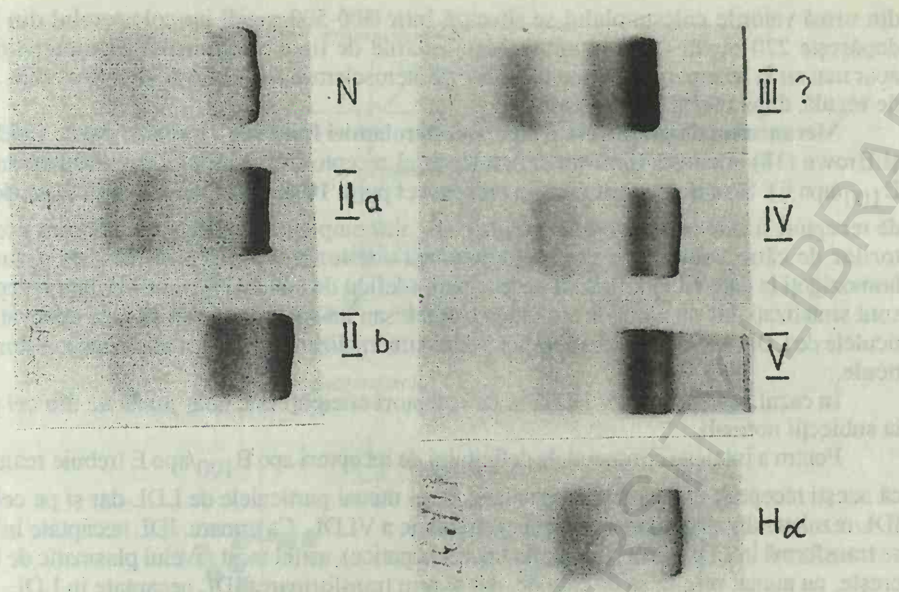


Fig.1.10. Aspectul electroforezei lipoproteinelor serice în diverse tipuri de hiperlipoproteinemie: N - subiect normal (colesterol 176 mg/dl; trigliceride 116 mg/dl); tip IIa heterozigot (colesterol 386 mg/dl; trigliceride 134 mg/dl); tip IIb (colesterol 340 mg/dl; trigliceride 286 mg/dl); tip III - beta lată (colesterol 536 mg/dl, trigliceride 398 mg/dl) - confirmarea diagnosticului de disbetalipoproteinemie necesită dozarea colesterolului din beta VLDL raportul colesterol/trigliceride din această fracţiune fiind mai mare de 0,30 pe când în VLDL de la subiecţi normali, sau cu tip II b/IV este sub 0,25; tip IV (colesterol 266 mg/dl, trigliceride 400 mg/dl); tip V (colesterol 360 mg/dl, trigliceride 1080 mg/dl). Se prezintă şi un aspect (H-alfa) depistat incidental la un subiect clinic sănătos în vârstă de 60 ani, care prezenta o creştere pronunţată a alfa-lipoproteinelor (HDL colesterol 97 mg/dl).

1.3.2.1.2. Creşterea beta-lipoproteinelor (HLP tip II a)

Majoritatea subiecţilor prezentând acest fenotip, caracterizat prin creşterea izolată a colesterolului din LDL (şi implicit a beta-lipoproteinelor) şi valori relativ normale ale trigliceridelor şi respectiv ale VLDL (prebeta) se încadrează în **hipercolesterolemia familială**, o entitate nozologică relativ bine definită sub aspect patogenetic. Datorită creşterii disproporţionat de mari a colesterolului faţă de trigliceride, raportul colesterol (mg/dl)/trigliceride (mg/dl) este mai mare ca 2.2. Transmiterea anomaliei se face după un mecanism autosomal dominant, iar homozigoţii prezintă creşteri extrem de mari ale colesterolemiei care ajunge la valori de peste 600 mg/dl (15,54 mmol/l), iar dezvoltarea leziunilor aterosclerotice asociate cu fenomene clinice severe care merg până la infarct miocardic, survine de multe ori înaintea vârstei de 20 de ani. Se produc totodată infiltraţii cu colesterol în piele şi tendoane, constituind aşa-zisele xantoame planare sau tuberoase pe genunchi, fese şi coate precum şi xantoamele tendinoase localizate mai ales pe tendonul lui Achile. Incidenţa stării de homozigot este însă extrem de rară (1 la 1 milion), pe când incidenţa heterozigoţilor este de 1 la 500 persoane. La aceştia

din urmă valorile colesterolului se situează între 300-500 mg/dl iar colesterolul din LDL depăşeşte 220 mg/dl (5.72 mmol/l). Manifestările de tipul xantoamelor tuberotendinoase apar mai rar la heterozigoţi iar manifestările de ateroscleroză coronariană, deşi frecvente, apar, de regulă, după vârsta de 40 de ani.

Mecanismul de producere a hipercolesterolamiei familiale a fost elucidat de Goldstein şi Brown (18) şi constă dintr-un deficit sever al receptorilor pentru LDL (receptori la apo B_{100}/apo E). S-au descoperit până în prezent cel puţin 10 mutaţii care pot duce la un deficit de receptori şi care pot surveni în diferite etape ale complexului proces de elaborare a receptorilor de către celulă, sau în funcţionalitatea acestor receptori. S-au descris cazuri de homozigoţi la care receptorii sunt nedecelabili (deficit de sinteză) şi cazuri la care receptorii sunt sintetizaţi dar nu ajung la suprafaţa celulei, sau nu sunt în măsură să lege adecvat particulele de LDL, iar în alte cazuri nu pot asigura internalizarea şi deci catabolizarea cestor particule.

În cazul heterozigoţilor numărul de receptori eficienţi este doar jumătate din cel găsit la subiecţii normali.

Pentru a înţelege consecinţele deficitului de receptori apo B_{100}/apo E trebuie reamintit că aceşti receptori captează şi internalizează nu numai particulele de LDL dar şi pe cele de IDL rezultate din degradarea parţială în circulaţie a VLDL. Ca urmare, IDL necaptate în ficat se transformă în LDL (prin intervenţia lipazei hepatice), astfel încât nivelul plasmatic de LDL creşte, nu numai prin lipsa de captare, dar şi prin transformarea IDL necaptate în LDL.

Datorită scăderii aportului de colesterol spre celulele ţesuturilor extrahepatice, care este furnizat în mod normal prin captarea LDL, se dereprimă enzima HMG-CoA reductază şi se accelerează sinteza de colesterol endogen în aceste celule. Excesul de colesterol din celulele amintite activează enzima acil-CoA-colesterol aciltransferază (ACAT), ceea ce duce la formarea esterilor de colesterol care se acumulează în ţesuturile extrahepatice. De menţionat că activarea HMG-COA-reductazei şi a ACAT nu are loc în hepatocite, deoarece aceste celule (ca şi cele intestinale) îşi reglează sinteza de colesterol şi în funcţie de aportul alimentar de colesterol, iar receptorii pentru resturile de chilomicroni (receptori la apo E) nu sunt afectaţi în hipercolesterolemia familială (8,9,18).

Recent, s-au depistat şi cazuri cu hipercolesterolemie familială în care numărul şi eficienţa receptorilor apo B_{100}/apo E sunt normale, dar la care a survenit o mutaţie în apoproteina B_{100} (3500 Arg $\rightarrow$ Gln). Ca urmare, particulele de IDL şi de LDL nu mai sunt recunoscute de către receptorii normaţi şi se acumulează în plasmă (55).

Rezumând mecanismele amintite, se poate afirma că în hipercolesterolemia familială sinteza hepatică de colesterol şi de VLDL decurge normal, după cum normală este şi catabolizarea parţială a particulelor de VLDL până la stadiul de IDL. Din cauza deficitului de receptori sau a mutaţiei survenite în apo B_{100}, particulele de IDL nu sunt captate în suficientă măsură în ficat şi se transformă în LDL, nefiind nici ele captate de receptorii apo B_{100}/apo E din ficat şi din ţesuturile extrahepatice. De fapt, cercetări efectuate cu LDL marcate cu izotopi radioactivi şi injectate intravenos au arătat că particulele amintite persistă în circulaţia subiectului cu hipercolesterolemie familială un timp de 2-3 ori mai prelungit decât la subiecţii sănătoşi. În cele din urmă, particulele de LDL sunt îndepărtate şi la bolnavii cu anomalia mai sus menţionată, datorită unor mecanisme independente de receptorii specifici şi evident mai puţin eficiente. Un astfel de mecanism este captarea LDL în macrofage, mai ales după ce ele au suferit anumite modificări structurale (vezi pag.34).

La heterozigoţi, care constituie majoritatea subiecţilor cu acest tip de hiperlipoproteinemie şi la care numărul sau eficienţa receptorilor este de aproximativ jumătate din cel întâlnit la

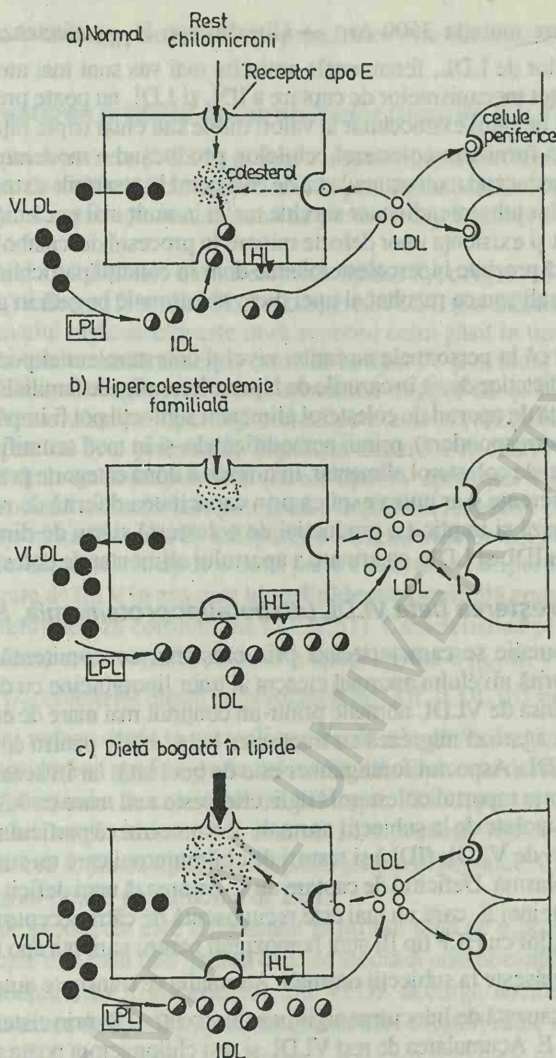


Fig.1.11. Rolul deficitului genetic sau câştigat de receptori faţă de LDL în determinarea hipercolesterolemiei. Adaptare după datele din literatură (8,9)

a) **la normali** VLDL secretate de ficat sunt convertite în IDL sub acţiunea lipoproteinlipazei (LPL), iar o bună parte a acestor particule este captată rapid de receptorii apo B_{100}/apo E din ficat. Restul particulelor de IDL se transformă în LDL sub acţiunea lipazei hepatice (HL) fiind ulterior captate cu ceva mai lent în aceiaşi receptori din ficat şi din alte ţesuturi. Se poate de asemenea vedea că aportul de colesterol spre hepatocite depinde nu numai de captarea de IDL şi LDL dar şi de colesterolul din resturile de chilomicroni captaţi în receptorii la apo E din ficat.

b) **în hipercolesterolemia familială**, deficitul genetic de receptori apo B_{100}/apo E, limitează captarea IDL care se transformă în LDL şi care, nefiind nici ele captate, se acumulează în plasmă.

c) **dieta bogată în colesterol** poate duce de asemenea la o diminuare a receptorilor hepatici pentru IDL şi LDL, reglarea acestor receptori depinzând de conţinutul în colesterol al hepatocitelor, crescut în astfel de cazuri, prin captarea resturilor de chilomicroni conţinând colesterol.

normali sau la care mutaţia 3500 Arg → Gln din apo B_{100} afectează doar jumătate din numărul particulelor de LDL, fenomenele amintite mai sus sunt mai atenuate. Reducerea la jumătate a eficienţei mecanismelor de captare a IDL şi LDL nu poate preveni creşterea acestor lipoproteine în lichidul extracelular la valori duble sau chiar triple faţă de normal, dar este totuşi în măsură să furnizeze colesterol celulelor, producând o moderare a activităţii HMG-CoA reductazei şi reducând mult acumularea de colesterol în ţesuturile extrahepatice. Ca urmare, apariţia xantoamelor tuberotendinoase survine rar, şi în mult mai mică măsură la heterozigoţi.

S-a semnalat şi existenţa unor defecte minore în procesul de catabolizare al LDL. Astfel de subiecţi ajung să prezinte hipercolesterolemie doar în condiţii particulare, de exemplu, dacă devin supraponderali sau ca rezultat al unei diete neraţionale bogată în grăsimi saturate şi în colesterol.

Este evident că la persoanele amintite, nivelul colesterolemiei poate fi mai uşor redus prin măsuri igienodietetice decât în cazurile de hipercolesterolemie familială. De altfel, în funcţie de comportarea faţă de aportul de colesterol alimentar subiecţii pot fi împărţiţi în non- şi hiperreactivi (non-, hyperresponders), primii nemodificându-şi în mod semnificativ colesterolemia la un adaos moderat de colesterol alimentar, în timp ce a doua categorie prezintă creşteri importante. Astfel de diferenţe s-ar putea explica prin capacitatea diferită de represie a sintezei de HMG-CoA reductază şi implicit a producţiei de colesterol şi/sau de diminuare a numărului de receptori pentru IDL şi LDL, ca urmare a aportului alimentar de colesterol (vezi fig.1.11).

1.3.2.1.3. Creşterea beta VLDL (disbetalipoproteinemia, HLP tip III).

Această anomalie se caracterizează prin creşterea concomitentă a trigliceridelor şi colesterolului datorită nivelului anormal crescut al unor lipoproteine cu densitate foarte joasă care se deosebesc însă de VLDL normale printr-un conţinut mai mare de colesterol, iar la electroforeză în gel de agaroză migrează cu fracţiunea beta, motiv pentru care li s-a atribuit termenul de beta-VLDL. Aspectul foreogramei este de beta lată, iar în această fracţiune izolată prin ultracentrifugare raportul colesterol/trigliceride este mai mare ca 0,30, acest raport fiind sub 0,25 în VLDL izolate de la subiecţii normali. S-a precizat că particula de beta-VLDL este alcătuită din resturi de VLDL (IDL) şi resturi de chilomicroni care nu sunt captate eficient şi se acumulează în plasmă. Deficitul de captare nu se datorează unui deficit de receptori, ci unei anomalii a apoproteinei E, care nu mai este recunoscută de către receptorii normali. De fapt, majoritatea subiecţilor cu HLP tip III sunt homozigoţi pentru varianta apo E_2 (E_2/E_2), pe când varianta E_3/E_3 se găseşte la subiecţii normali. Anomalia se transmite autosomal recesiv, este relativ rară şi este cauzată de înlocuirea argininei din poziţia 158 prin cisteină (158Arg → Cys) în molecula de apo E. Acumularea de rest VLDL şi rest chilomicroni poate surveni şi în cazurile şi mai rare de deficit total de apo E sau în deficite ale lipazei hepatice.

Subiecţii cu HLP tip III prezintă risc crescut pentru apariţia precoce a manifestărilor clinice ale aterosclerozei. Adeseori aceşti subiecţi sunt supraponderali, hiperuricemici şi prezintă o toleranţă scăzută la testul de încărcare cu glucoză. Se constată o mare tendinţă la dezvoltarea xantoamelor tuberoeruptive şi palmare. Toate manifestările descrise mai sus apar, de regulă, la vârsta adultă şi sunt favorizate de factori de mediu cum sunt obezitatea, alimentaţia hipercalorică şi consumul de alcool. Se poate presupune că în aceste cazuri survine o sinteză accelerată de VLDL, care sunt relativ normal prelucrate în circulaţie până la stadiul de IDL al căror catabolism este însă blocat din cauza anomaliei apoproteinei E. Pe de altă parte, un regim igienodietetic adecvat, care duce la slăbire, se însoţeşte de o ameliorare evidentă a hiperlipidemiei. Astfel de observaţii atrag atenţia că şi în cazul unor deficite

genetice dezvoltarea evidentă a anomaliei lipoproteinelor este favorizată de anumiţi factori de mediu (56).

1.3.2.1.4. Creşterea prebeta-lipoproteinelor (tipurile II b, IV şi V)

Creşterea fracţiunii prebeta (VLDL) şi deci a trigliceridelor survine foarte frecvent, dar această anomalie este deosebit de heterogenă, atât în privinţa aspectelor realizate de spectrul lipidelor serice cât şi în ce priveşte mecanismul de producere, precum şi a riscului de apariţie a aterosclerozei.

Creşterea izolată a VLDL este caracteristică tipului IV, creşterea VLDL şi LDL (de regulă LDL > VLDL) realizează fenotipul IIb, iar creşterea VLDL şi a chilomicronilor corespunde cu tipul V când şi nivelul trigliceridelor este mult superior celui găsit în tipurile II b şi IV.

Colesterolemia este normală sau uşor crescută în tipul IV şi evident crescută în tipurile IIb şi V. Raportul colesterol/trigliceride este supraunitar în tipul IIb şi subunitar în tipul IV şi mai ales în tipul V evoluând cu hipertrigliceridemie excesivă (vezi tab. 1.4 şi tab.1.5).

Aceste fenotipuri au fost prezentate împreună deoarece în multe cazuri se constată posibilitatea trecerii dintr-un fenotip în altul (de ex. tipul IV spre tipul V şi invers) în funcţie de felul în care se asociază mecanismele patogenice implicate, respectiv creşterea sintezei de VLDL şi insuficienţa mecanismelor de îndepărtare a trigliceridelor din plasmă.

Există astăzi tendinţa de a include o bună parte a cazurilor cu tipurile II b şi IV precum şi unele cazuri mai rare de tip V în aşa-zisa **hiperlipidemie familială combinată** care se asociază frecvent cu ateroscleroza coronariană (22,32,51). Caracteristică pentru această formă de hiperlipoproteinemie este creşterea relativă a apoproteinei B_{100} în VLDL şi LDL astfel încât raportul apo B_{100}/colesterol creşte iar particulele de LDL (LDL III) sunt relativ mai dense şi de dimensiuni mai reduse decât la normali sau decât cele găsite în hipercolesterolemia familială (33). Se consideră că apariţia particulelor LDL III relativ mai dense se datorează transferului neenzimatic al esterilor de colesterol din LDL spre VLDL, proces mediat de către proteina de transfer a esterilor de colesterol. În schimb, LDL primesc trigliceride din VLDL care sunt apoi hidrolizate sub acţiunea lipoproteinlipazei şi lipazei hepatice. Ca urmare, se reduce încărcătura de material lipidic pe particula de LDL.

Mecanismul de producere este reprezentat în primul rând de o accelerare a sintezei şi secreţiei de VLDL care este mult mai intensă când se asociază unei obezităţi androide. În multe astfel de cazuri îndepărtarea trigliceridelor din VLDL decurge normal, aşa încât hiperlipoproteinemia (cu exces de apo B_{100}) se datorează unei creşteri reale a numărului de particule lipoproteice conţinând apo B_{100} şi nu doar unei supraîncărcări cu trigliceride pe particulă. Hipertrigliceridemia se va accentua atunci când, la accelerarea sintezei de VLDL, se asociază cu deficit de îndepărtare a trigliceridelor, putându-se astfel ajunge la aspectul fenotipului V.

Există însă şi posibilitatea unei sporiri a capacităţii de îndepărtare a trigliceridelor din plasmă, astfel încât creşterea sintezei de VLDL este în bună măsură compensată iar singurele modificări decelabile sunt o accelerare a proceselor de turn-over a VLDL şi de o creştere a concentraţiei de apoproteină B_{100}.

Soarta particulelor de IDL şi LDL rezultate din catabolismul VLDL depinde de numărul şi eficienţa receptorilor apo B_{100}/apo E. O eficienţă moderat redusă a acestor receptori, asociată cu o sinteză accelerată de VLDL şi o capacitate normală de prelucrare a VLDL în

Tabel 1.4.

Comportarea lipidelor serice în diverse tipuri de hiperlipoproteinemie. Valori medii ± eroarea standard a mediei. Pentru tipurile IIa, IIb, IV şi V sunt date valorile numerice obţinute în cercetări proprii, iar pentru tipurile I şi III s-au preluat după Schaefer şi Levy (51). Din aceeaşi sursă sunt luate valorile pentru LDL colesterol, precum şi rapoartele LDL colesterol/HDL colesterol şi VLDL colesterol/VLDL trigliceride

Tip	Modificarea fracţiunilor lipoproteice	Aspectul plasmei răcite	Lipide serice		Raport** colesterol/ trigliceride în plasmă	LDL colesterol (mg/dl)	Raport** LDL colesterol/ HDL colesterol	Raport** VLDL colesterol/ VLDL trigliceride
			Colesterol* (mg/dl)	Trigliceride* (mg/dl)				
I (12 cazuri)	Creşterea excesivă a chilomicronilor	smântânos, infranatant, clar	324 ± 57	3316 ± 677	0,10	22	1,29	0,09
II a (53 cazuri heterozigoţi)	Creşterea betalipoproteinelor (Hiper-LDL)	clar	358 ± 9,1	130 ± 3,4	2,71	280	6,5	0,18
II b (130 cazuri)	Creşterea beta- şi prebeta lipoproteinelor (LDL+VLDL)	clar sau uşor opalescent	334 ± 5,8	211 ± 5,04	1,54	230	6,0	0,18
III (66 cazuri)	Creşterea beta-VLDL (beta lată)	mai des opalescent	441 ± 54	694 ± 60	0,60	111	2,97	0,42
IV (86 cazuri)	Creşterea prebeta-lipoproteinelor (hiper VLDL)	opalescent	260 ± 20	510 ± 34	0,55	140	3,78	0,18
V (20 cazuri)	Creşterea prebeta şi a chilomicronilor (VLDL+chilomicroni)	lăptos, infranatant, opalescent	370 ± 40	2100 ± 230	0,18	70	2,67	0.13

* Colesterol mmol/l = colesterol mg/dl x 0,0259; Trigliceride mmol/l = trigliceride mg/dl x 0,0114

** Valorile rapoartelor colesterol/trigliceride în plasmă, LDL colesterol/HDL colesterol şi VLDL colesterol/VLDL trigliceride întâlnite la normali sunt de 2,17; 2,47 şi respectiv 0,18.

Tabel 1.5.

Particularităţi clinice şi metabolice frecvent asociate cu anumite tipuri de hiperlipoproteinemie. Aceste particularităţi nu se aplică neapărat în hiperlipidemiile cu caracter secundar (trecute în ultima coloană), chiar dacă ele pot realiza aspectele fenotipurilor descrise de Fredrickson şi Lees.

Tip	Frecvenţa	Manifestări clinice asociate	Toleranţa la glucoză	Asocierea cu supragre-utatea	Nivel plasmatic al unor enzime de secreţie hepatică (colinesterază, LCAT, factor XIII)	Manifestări clinice ale aterosclerozei	Forme secundare unor îmbolnăviri ca:
I	foarte rară	Xantoame eruptive Hepatomegalie Atacuri de pancreatită Dureri abdominale	normală	rar	mai des normal	rare	Diabet insulino-dependent cu acidocetoză; Alcoolism
II a	frecventă (heterozigoţi)	Xantomatoză tuberotendinoasă (la homozigoţi) Xantelasmă palpebrală	normală	rar	mai des normal	frecvente şi precoce	Hipotiroidism; Mai rar în sindrom nefrotic
II b	frecventă	De regulă fără xantomatoză	normală sau scăzută	destul de des asociată	de regulă crescut	frecvente	Hipotiroidism; Sindrom nefrotic
III	rară	Xantomatoză tuberotendinoasă uneori xantoame palmare	adeseori scăzută	asociere frecventă	crescut la obezi	frcvente şi precoce	Hipotiroidism
IV	frecventă	Ficat uşor mărit (Steatoză hepatică)	adeseori scăzută	asociere foarte frecventă	de regulă crescut	frecvente	Diabet; Sindrom nefrotic; Alcoolism
V	relativ rară	Acelaşi ca în tipul I dar mai atenuate	adeseori scăzută	asociere frecventă	comportare variabilă	rare	Diabet grav cu acido-cetoză. Alcoolism. Sindrom nefrotic

plasmă poate duce la o creştere predominantă a LDL şi în mod surprinzător la realizarea fenotipului IIa.

De fapt, studii de cinetică a lipoproteinelor au demostrat că o serie de subiecţi cu fenotipul IIa prezentau o accelerare a secreţiei de VLDL, încadrându-se mai degrabă în hiperlipoproteinemia familială combinată şi nu în hipercolesterolemia familială.

În cadrul fenotipurilor IV şi V s-a diferenţiat o entitate denumită **hipertrigliceridemia familială** şi care diferă de hiperlipidemia familială combinată printr-un nivel relativ mai scăzut al apoproteinei B_{100}, o valoare normală a raportului apo B_{100}/ colesterol şi un risc mai redus pentru dezvoltarea aterosclerozei.

Spre deosebire de hiperlipidemia familială combinată, hipertrigliceridemia familială se caracterizează nu atât printr-un număr crescut de particule VLDL, cât mai ales printr-o creştere a încărcăturii de trigliceride pe fiecare particulă (32, 51). În astfel de cazuri, pe primul plan se situează un defect de îndepărtare a trigliceridelor. Spre deosebire de tipul I, în astfel de hipertrigliceridemii familiale, evoluând cu fenotipul V, se depistează rareori deficite severe de lipoproteinlipază sau de apo C II, dar există adeseori o creştere a apoproteinei C III bogată în acid sialic (apo C III2) care limitează acţiunea lipoproteinlipazei şi întârzie captarea resturilor de chilomicroni. În fig. 1.8 (vezi pag.39) sunt reprezentate schematic mecanismele prin care se poate ajunge la o hipertrigliceridemie. De notat că hiperlipidemia familială combinată este mai aterogenă decât hipertrigliceridemia familială.

1.3.2.2. ANALIZA CRITICĂ A CRITERIILOR DE CLASIFICARE A HIPERLIPOPROTEINEMIILOR

Cele arătate mai sus sunt în măsură să atragă atenţia asupra imperfecţiunilor sistemului de clasificare a hiperlipoproteinemiilor pe baza aspectului electroforezei în agaroză a lipoproteinelor (vezi tabel 1.4) şi care nu dă indicii asupra defectului molecular care stă la baza anomaliei. Aşa de exemplu, fenotipul IIa se poate întâlni atât în hipercolesterolemia familială cauzată de un deficit de receptori sau de o anomalie de apo B_{100}, cât şi în hiperlipoproteinemia familială combinată în care aspectul se realizează printr-o secreţie crescută de VLDL, care sunt mai rapid catabolizate spre LDL. De asemenea, hipertrigliceridemiile endogene realizând fenotipul IV pot fi rezultatul unor dereglări diferite în care accelerarea sintezei şi deficitul de clearence intervin în proporţii variabile. Se pare că un anumit grad de ineficienţă a proceselor de clearence a trigliceridelor plasmatice reprezintă fondul genetic, iar accelerarea sintezei hepatice de VLDL ar fi consecutivă obezităţii de tip android (viscerală) şi modului de viaţă (sedentarism, alimentaţie hipercalorică şi bogată în dulciuri, consum de alcool).

Diferenţierea hiperlipoproteinemiilor în funcţie de defectul molecular ar implica determinări de apoproteine şi de variante ale acestora, explorarea activităţii enzimelor implicate în metabolismul lipidic şi evaluarea eficienţei receptorilor celulari. Chiar şi diferenţierea unei hiperlipidemii produse prin defect de catabolizare faţă de una cauzată de o sinteză şi secreţie accelerată, ar implica studii de cinetică a lipoproteinelor marcate cu izotopi radioactivi.

Date circumstanţiale sugerează însă că stările în care se poate bănui o accelerare a sintezei de VLDL se asociază cu o creştere a activităţii unor enzime de secreţie hepatică aşa cum sunt colinesteraza şi LCAT. În tabelul 1.6. se încearcă o prezentare a datelor actuale din literatură care urmăresc să stabilească legături între anumite defecte moleculare şi mecanis-

Tabel 1.6.

Mecanisme patogenice, defectele moleculare depistate, entitățile genetice izolate și corespondența acestora cu fenotipurile descrise de Fredrickson și Lees.

Mecanism patogenetic	Defecte moleculare	Modificări consecutive al lipoproteinelor	Entitate genetică	Fenotipul
Defect sever de îndepărtare a trigliceridelor din plasmă	Deficit de lipoproteinlipază Deficit de apo C II Apo C III anormală (C III_2) variantă apo E_4/E_4	Cresc chilomicronii Cresc chilomicronii și VLDL	Hipertrigliceridemie exogenă severă (autosomal recesivă)	I V
Deficit de îndepărtare a IDL și resturilor de chilomicroni la nivel hepatic	Deficit de apo E Varianta apo E_2/E_2 Deficit de lipază hepatică	Creșterea beta-VLDL (beta lată)	Disbetalipoproteinemie (autosomal recesivă)	III
Defect de îndepărtare a LDL și a IDL care se transformă în LDL	Deficit de receptori apo B_{100}/apo E Anomalie în apo B_{100} (mutația 3500 Arg ® Gln)	Creșterea LDL	Hipercolesterolemie familială (autosomal dominantă)	II a
Defect minor de îndepărtare a trigliceridelor la care se poate asocia o accelerare a sintezei de trigliceride și mai puțin de apo B_{100}	?	Creșterea VLDL (creșterea încărcăturii de trigliceride pe particulă)	Hipertrigliceridemie familială (Autosomal dominantă)	IV
Accelerarea sintezei de VLDL, inclusiv a apo B_{100} Turn-over accelerat	Vezi addendum la finele capitolului	Cresc VLDL; cresc VLDL și LDL (creșterea unor LDL mai dense -LDL-III; creșterea raportului apo B_{100}/ colesterol Mai rar: cresc VLDL + chilomicroni	Hiperlipidemie combinată familială (autosomal dominantă)	mai des IV și IIb; mai rar IIa și V

mele prin care se ajunge la dezvoltarea diverselor fenotipuri de hiperlipoproteinemie. De notat că nu se poate exclude asocierea a două sau chiar mai multor defecte moleculare şi de fapt s-au descris hiperlipoproteinemii poligenice, mai greu de încadrat cu mijloacele laboratorului clinic.

1.3.2.3. ALTE ANOMALII ALE LIPOPROTEINELOR ŞI LIPIDELOR

1.3.2.3.1. Prezenţa de LDL anormale (betasitosterolemia şi xantomatoza cerebrotendinoasă)

Creşterea anormală a absorbţiei intestinale a unor steroli de origine vegetală poate favoriza atât dezvoltarea xantoamelor cât şi dezvoltarea precoce a leziunilor aterosclerotice, deşi colesterolemia se situează în limite normale. Din fericire, fenomenele pot fi influenţate favorabil prin terapia orală cu colestiramină care inhibă absorbţia de sitosteroli.

În cazurile de xantomatoză cerebrotendinoasă se acumulează în plasmă colestanol, un compus steroidic intermediar (similar colesterolului dar lipsit de dublă legătură şi de lanţul lateral).

Această anomalie cauzată de un efect metabolic pe calea de sinteză a colesterolului se asociază cu o deprimare marcată a sintezei de acizi biliari şi evoluează cu xantomatoză la nivelul tendoanelor şi fenomene neurologice. Administrarea de chenodeoxicolat (250 mg de 3 ori pe zi) reduce concentraţia plasmatică de colestanol şi încetineşte evoluţia fenomenelor neurologice (27).

1.3.2.3.2. Deficite de chilomicroni, VLDL şi LDL (abetalipoproteinemia şi hipobeta-lipoproteinemia)

În caz de scădere a colesterolemiei sub 50 mg/dl (sub 1,3 mmol/l) se poate bănui prezenţa unei **abetalipoproteinemii**. Anomalia este cauzată de un deficit autosomal recesiv în procesul de sinteză a apoproteinei B. În unele cazuri se constată absenţa totală a lipoproteinelor conţinând în structura lor apo B_{100} sau apo B_{48} (VLDL, LDL, chilomicroni). Anomaliile, respectiv deficitul de apo B_{48}, se asociază cu tulburări de absorbţie a lipidelor, care se elimină prin fecale (steatoree). În toate cazurile survin modificări de formă ale eritrocitelor, care au un aspect crenelat cu spini (acantocitoză). Mai grave sunt însă afectarea retinei (retinită pigmentară) şi tulburările nervoase caracterizate prin ataxie şi având ca substrat morfologic o demielinizare a cordoanelor posterioare şi laterale ale măduvei.

S-a descris şi o aşa-zisă abetalipoproteinemie normotrigliceridemică în care apo B_{48} este prezentă în plasmă, iar absorbţia trigliceridelor şi formarea chilomicronilor decurge normal. Deşi apo B_{100} lipseşte şi implicit nu se formează VLDL, manifestările clinice sunt mai puţin severe decât în deficitul ambelor apoproteine B.

Hipobetalipoproteinemia este o anomalie de sine stătătoare şi nu doar o formă minoră a afecţiunii descrise mai sus.

Hipobetalipoproteinemia se trimite printr-un mecanism autosomal dominant, fiind deci mai frecvent depistată. La heterozigoţi, nivelele de LDL şi VLDL sunt de aproximativ 50% din cele normale, după cum scăzut este şi nivelul colesterolemiei, iar manifestările clinice, semnalate la subiecţii cu abetalipoproteinemie, lipsesc. Homozigoţii proveniţi din doi părinţi

cu hipobetalipoproteinemie prezintă însă toate manifestările clinice şi de laborator ale abetalipoproteinemiei (6.27).

Deşi rare, astfel de cazuri au o deosebită importanţă teoretică demonstrând importanţa apo B_{48} pentru absorbţia lipidelor şi a apo B_{100} pentru transportul lipoizilor şi vitaminelor liposolubile spre celulele ţesuturilor extrahepatice şi în special spre retină şi sistemul nervos. De notat că administrarea parenterală de vitamina A şi E încetineşte progresiunea complicaţiilor neurologice şi oculare.

Pe de altă parte, lipsa manifestărilor clinice la subiecţii cu hipobetalipoproteinemie (heterozigoţi) având aproximativ 50% din valorile normale de VLDL şi LDL, denotă că organismul uman ar putea face faţă necesităţilor cu o cantitate de LDL mult mai redusă decât cea considerată în prezent ca fiind normală pentru populaţia europeană şi nordamericană.

Studii de biologie moleculară au precizat că o aceeaşi genă de structură, localizată pe cromozomul 2, codifică atât sinteza hepatică de apo B_{100} (4536 aminoacizi) cât şi sinteza în mucoasa intestinală a apo B_{48} (2152 aminoacizi). Formarea apoproteinei B_{48} ar fi rezultatul introducerii unui codon stop prematur, care întrerupe formarea lanţului peptidic după aminoacidul cu numărul 2152.

S-au identificat diverse mutaţii prin care se poate ajunge la trunchieri ale apo B la alte nivele şi implicit la producerea unor apo B normale (apo B_{46}; apo B_{37}, apo B_{39}) a căror secreţie decurge mai lent şi având drept consecinţă diverse grade de hipobetalipoproteinemie (59).

1.3.2.3.3. Deficitul de HDL

S-au descris mai multe deficite evoluând cu diferite grade de reducere a concentraţiei plasmatice de HDL.

Astfel **hipoalfalipoproteinemia familială** se caracterizează prin valori medii ale colesterolului din HDL de 26 mg/dl şi care sunt evident sub limita inferioară de 33 mg/dl. Transmisă autosomal dominant, anomalia este relativ frecvent întâlnită şi evoluează cu o accentuată predispoziţia la ateroscleroză.

În aşa-zisa **boală Tangier** nivelul de HDL scade mult mai mult, astfel încât heterzigoţii prezintă valori de aproximativ 50% din media normalilor, iar la homozigoţi se întâlnesc nivele de aproximativ 1% din valorile normale. La aceştia din urmă, colesterolemia se situează la valori de 50-90 mg/dl, trigliceridele sunt moderat crescute, iar în ţesuturi se constată o acumulare de esteri de colesterol. Se ajunge la o hepatosplenomegalie şi adenopatii, iar amigdalele capătă un aspect galben-portocaliu ca un fagure de miere. La aceste manifestări se adaugă un oarecare grad de opacifiere a corneei şi o tendinţă la dezvoltarea prematură a aterosclerozei (27).

Scăderea HDL se asociază cu un nivel extrem de scăzut al apo A-I care nu este consecinţa unui deficit de sinteză, ci ca urmare a eliberării unei apo A-I modificată şi susceptibilă la o catabolizare rapidă.

Având-se în vedere că particulele de HDL asigură transportul colesterolului de la ţesuturile extrahepatice spre ficat şi că apo A-I este un cofactor al enzimei LCAT care asigură esterificarea colesterolului în plasmă, scăderea esterilor de colesterol în plasmă şi acumularea acestora în ţesuturi apare ca o consecinţă logică a deficitului de apo A-I. Faptul că în ţesuturi se găsesc mai ales esteri de colesterol se explică prin aceea că, orice creştere de colesterol liber în celulă activează ACAT (acil-CoA-colesterol-aciltransferază), enzima care catalizează esterificarea intracelulară a colesterolului (27).

Defectul combinat de apoproteină A-I şi C III se asociază cu valori extrem de scăzute ale HDL, scădere a colesterolemiei, xantomatoză cutanată şi palpebrală, opacifierea corneei

şi tendinţă deosebit de accentuată la dezvoltarea precoce a aterosclerozei. Spre deosebire de boala Tangier, scăderea nivelelor de apo A-I şi apo C-III nu se datorează unei catabolizări excesiv de rapide, ci unui real deficit de sinteză a acestor apoproteine (47).

Un deficit de HDL în care opacifierea corneei se situează pe prim plan este aşa-numita **boală a ochilor de peşte** (fish eye disease).

S-au descris şi cazuri în care opacifierea corneei şi boala coronariană precoce se asociază în mod paradoxal cu o creştere a concentraţiei de colesterol din HDL. Întrucât această creştere se limitează la subfracţiunea HDL 2 supraîncărcată cu lipide (mai ales esteri de colesterol) se consideră că anomalia ar consta dintr-un deficit de transfer al esterilor de colesterol din HDL spre VLDL sau a încetinirii captării hepatice a încărcăturii lipidice din HDL2. De fapt în astfel de cazuri de **hiper HDL_2 colesterolemie familială** se ajunge la o blocare a transportului în revers a colesterolului şi la o acumulare a acestuia în ţesuturi (41).

1.3.2.3.4. Deficitul familial de lecitincolesterol-aciltransferază (LCAT)

Autori scandinavi au descris două surori care prezentau ateroscleroză precoce, opacifierea corneei, anemie normocromă hiporegenerativă, proteinurie şi insuficienţă renală progresivă. Explorările de laborator au evidenţiat o scădere marcată a esterilor de colesterol şi a lizolecitinei în timp ce colesterolul liber şi lecitina sunt evident crescute.

Examenul electroforetic al lipoproteinelor în gel de agaroză evidenţiază o scădere exprimată a fracţiunii α_1 o mică cantitate de HDL migrând întârziat în fracţiunea α_2, fracţiunea prebeta se contopeşte cu fracţiunea beta care apare mult lărgită înglobând şi cantităţi variabile de LpX bogată în colesterol liber şi lecitină (vezi pag. 18). Toate aceste anomalii s-au dovedit a fi datorate deficitului de LCAT care în mod normal transferă un acid gras de pe lecitină pe colesterol formând esteri de colesterol şi lizolecitină. Întrucât LCAT formează împreună cu HDL o unitate funcţională cu rol de transport în revers a colesterolului, se ajunge la o acumulare de colesterol (şi de lecitină în acest caz) în ţesuturi. Aşa se explică manifestările clinice descrise mai sus, având ca substrat formarea de celule spumoase în măduva osoasă şi rinichi precum şi infiltrarea de colesterol în toate straturile stromei corneei. Totodată acumularea de colesterol liber şi de lecitină în membrana eritrocitelor duce la deformări ale acestora realizând aspecte în ţintă (46).

1.3.2.3.5.Deficitul de hidroliză intracelulară a esterilor de colesterol

Aceste mutaţii nu afectează lipoproteinele plasmatice sau receptorii celulari ai acestora, dar se soldează cu importante acumulări de esteri de colesterol şi de trigliceride în diverse ţesuturi. Reamintim cu acest prilej că ţesuturile primesc mai ales esteri de colesterol furnizaţi prin LDL şi captaţi prin receptori, dar că pentru formarea membranelor celulare, iar în anumite organe pentru sinteza de hormoni sau de acizi biliari, în ficat, este necesară o prealabilă hidroliză a esterilor amintiţi. Deficitul de colesterilesterhidrolază acidă care asigură eliberarea colesterolului din esterii săi în celule se soldează cu acumularea esterilor de colesterol în lizozomi şi determină boli deosebit de grave. Astfel **boala Wolman** duce la supraîncărcarea cu esteri de colesterol şi la calcifierea glandelor suprarenale, decesul survenind înaintea vârstei de un an.

Boala stocării esterilor de colesterol este mai benignă iar unii subiecţi afectaţi au supravieţuit peste vârsta de 40 de ani. Ambele anomalii se transmit după un mecanism autosomal recesiv şi sunt rare, iar cauzele diferenţei în privinţa gravităţii între cele două entităţi nu sunt încă elucidate (27).

Tabel 1.7.

Prezentare schematică a tezaurismozelor cu sfingolipide

Denumirea bolii	Lipoidul acumulat	Compoziția lipoidului	Defectul enzimatic	Organele în care are loc acumularea și manifestări clinice consecutive
Sfingomielinoză (Niemann-Pick)	Sfingomielina	acid gras-sfingozină-fosforil-colină	Sfingomielinază	ficat, splină, unele zone din creier, retardare fizică și mintală
Gangliozidoze neuroviscerale	Gangliozid	acid gras-sfingozină-galactoză-acetil-galactozamină-galactoză	Galactozidază specifică	ficat, creier, idioție amaurotică
Tay-Sachs	Gangliozid (fără galactoză terminală)	acid gras-sfingozină-galactoză-acetil-galactozamină	N-acetilgalactozidază specifică	creier, retardare mintală până la idioție amaurotică
Boala Gaucher	Glicozilceramidă (cerebrozid)	acid cerebronic (acid gras hidroxilat-sfingozină-glucoză	Glucocerebrozidază	ficat, splină, ganglionii limfatici, hepatosplenomegalie, hipersplenism (leucopenie, trombocitopenie)
Boala Fabry	Trihexozidceramidă	acid cerebronic-sfingozină-glucoză-galactoză-galactoză	Galactozidazoceramid trihexozidază	rinichi (glomeruli și tubi), ficat, splină, vase, insuficiență renală, tromboză coronariană
Leucodistrofie metacromatică	Sulfatid (cerebrozid-sulfat)	acid cerebronic-sfingozină-galactozo-3-sulfat	Sulfatază	sistem nervos central și rinichi manifestări date de demielinizare (paraplegie spastică, retardare mintală, fenomene cerebeloase)

1.3.2.3.6.Anomalii ale sfingolipidelor (tezaurismoze lipidice)

Acest grup de îmbolnăviri rare, cu caracter familial, au la bază acumulări de sfingolipide în diverse țesuturi. Sfingolipidele constituie un grup heterogen de compuşi având în comun un alcool aminat cu 18 atomi de carbon denumit sfingozină. Legarea sfingozinei într-o legătură amidică cu un acid gras (N-acilsfingozina) formează aşa-zisele ceramide care constituie unitatea de bază a sfingolipidelor. Întrucât diagnosticul acestor anomalii se bazează mai ales pe studierea materialului bioptic şi beneficiază în mică măsură de aportul laboratorului clinic, ne limităm a le reda sub formă succintă în tabelul 1.7.

1.4. LIPOPROTEINELE ŞI ATEROGENEZA

Deşi există un consens după care anumite anomalii ale lipoproteinelor serice reprezintă un factor de risc pentru dezvoltarea leziunilor aterosclerotice, mecanismele prin care se instalează aceste leziuni sunt controversate. În prezentul subcapitol ne vom limita la relatarea unor fapte de observație verificate, încercând să le corelăm cu anomaliile metabolismului lipidic. În esență, fenomenele implicate în aterogeneză pot fi astfel sistematizate:

a. acumularea intra şi extracelulară de material lipidic, mai ales colesterol şi prezența de apo B_{100} în peretele arterial;

b. existența unor procese de modificare a particulelor de LDL pătrunse în peretele arterial;

c. migrarea unor monocite din sângele circulant în subendoteliu şi formarea celulelor spumoase;

d. proliferarea celulelor musculare netede ale peretelui arterial;

e. acumularea de țesut conjunctiv (fibre de colagen şi proteoglicani) şi formarea unei capsule fibroase care acoperă materialul lipidic acumulat;

f. formarea de microtrombi murali fibrinoplachetari care au o mare tendință de încorporare în straturile subendoteliale ale peretelui arterial;

g. prezența complexului de atac al membranei (complexul C5b-9 al sistemului complement) pe membrana celulelor în curs de liză;

h. prezența de leziuni ale endoteliilor cu sau fără zone de deendotelizare, indicând procese reparatorii prin migrarea şi proliferarea celulelor, asociate cu anomalii funcționale ale celulelor endoteliale;

i. posibilitatea de fisurare a capsulei fibroase a ateromului şi declanşarea unor complicații trombotice prin contactul sângelui cu materialul ieşit din placa fisurată.

1.4.1.ACUMULĂRI DE COLESTEROL ÎN PERETELE VASCULAR ŞI FORMAREA CELULELOR SPUMOASE

Acest proces, care rezultă dintr-un dezechilibru între pătrunderea de LDL prin endotelii şi mecanismele care asigură îndepărtarea acestora şi în special a excesului de colesterol, nu poate fi înțeles fără a se ține cont de rolul elementelor celulare. De fapt, plăcile ateromatoase sunt umplute cu celule gunoier (scavenger cells) care înglobând mari cantități de material lipidic din LDL şi IDL se transformă în celule spumoase. Astfel de celule provin fie din macrofagele peretelui arterial, fie din monocitele sângelui circulant care pătrund în acest perete, fie la nivelul unor leziuni endoteliale, fie prin diapedeză (9).

Există dovezi că macrofagele captează cu aviditate mai ales particulele de LDL modificate (peroxidate, acetilate, malonilate, succinilate, glicozilate sau cuplate cu pro-

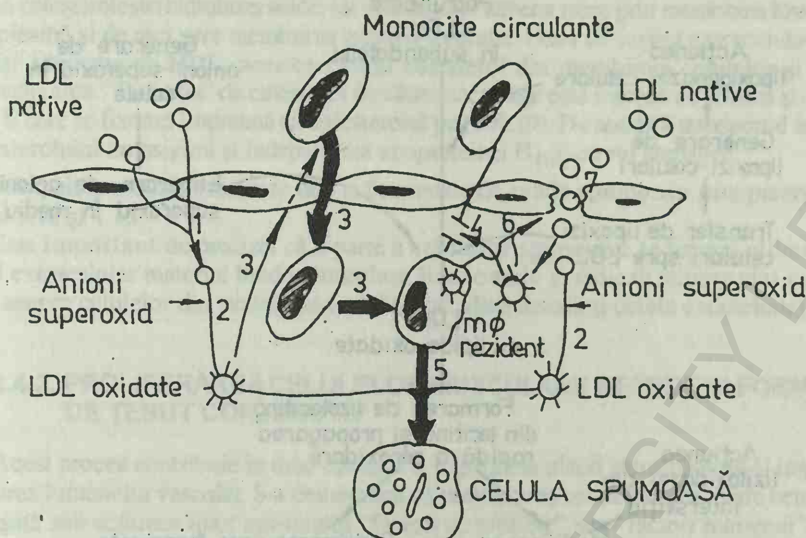


Fig. 1.12. Rolul particulelor de LDL modificate oxidativ în procesul de formare a celulelor spumoase. 1) particulele de LDL pătrund în spaţiile subendoteliale şi 2) suferă un proces de oxidare sub acţiunea anionilor superoxid generaţi de celulele peretelui vascular (monocite/macrofage; endotelii; celule musculare netede); 3) LDL oxidate atrag monocitele care înglobează aceste particule; 4) monocitele/macrofage încărcate cu LDL işi reduc motilitatea şi rămân blocate în peretele arterial ca macrofag (m ϕ) rezident, continuând să înglobeze LDL oxidate şi 5) transformându-se în celule spumoase; 6) LDL oxidate şi macrofagele încărcate cu aceste particule exercită un efect nociv producând o disfuncţie endotelială şi 7) accentuează insudarea de LDL din plasmă (după Steinberg şi colab. (54), cu unele modificări).

teoglicani). De remarcat că particulele de LDL mai dense (LDL III), relativ mai bogate în apo B_{100}, se fixează cu mai mare afinitate în peretele arterial şi având un "timp de rezidenţă" prelungit sunt mai susceptibile la oxidare.

De fapt, sub acţiunea radicalilor superoxizi generaţi de macrofagele activate se produc modificări oxidative ale lizinei din apo B_{100} şi a fosfolipidelor din particulele de LDL. De notat că lichidul extracelular al tendoanelor şi al aortei conţine liziloxidază, o enzimă cu rol în legarea transversală a fibrelor de colagen, dar care ar putea oxida şi radicalii epsilon-amină ai lizinei din apo B_{100}. În principiu, aceşti radicali ar putea reacţiona şi cu alţi compuşi cum sunt malondialdehida produsă în cursul generării de prostaglandine în plăcuţele activate sau cu leucotrienele formate sub acţiunea lipoxigenazei. Toate reacţiile menţionate cresc încărcarea electronegativă a particulelor de LDL şi favorizează captarea lor de către macrofage prin intermediul unor receptori speciali care diferă de receptorii apo B_{100}/apo E. O caracteristică importantă a receptorilor de la suprafaţa "celulelor gunoier" constă în faptul că nu sunt reglabili, permiţând astfel acumulări mari de LDL care depăşesc capacitatea celulei de a le metaboliza, ajungându-se astfel la formarea de celule spumoase (54).

Mecanismele care tind să prevină o acumulare excesivă de LDL şi de colesterol (mai ales sub formă de esteri) sunt şi ele dependente de elementul celular. Astfel, în condiţiile unei transcitoze moderate de LDL, macrofagele din zona subendotelială care au înglobat aceste

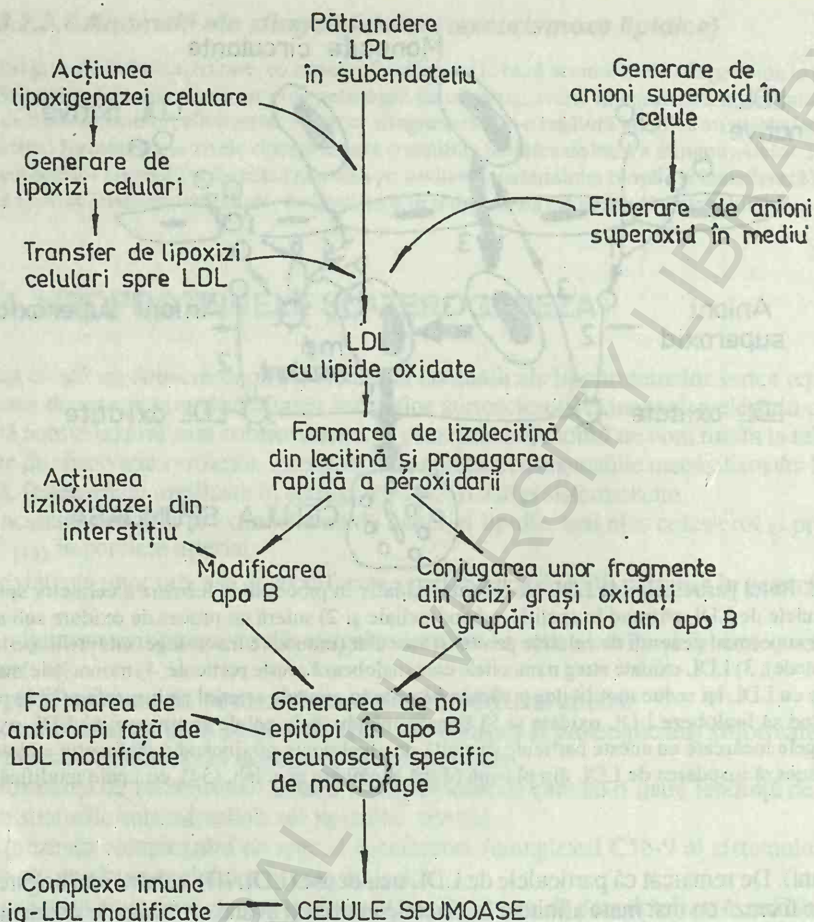


Fig. 1.13 Modificări biochimice care duc la creșterea aterogenității particulelor de LDL. Modificată după Steinberg și colab. (54).

lipoproteine (însă nemodificate) părăsesc peretele arterial din diapedeză (printre celulele endoteliale) trec în circulație și sunt blocate în splină și în ganglionii limfatici unde sunt degradate.

În condițiile unei insudări excesive de LDL care stagnează în peretele vascular și ajung să sufere procesele oxidative menționate, aceste particule de LDL modificate vor inhiba motilitatea macrofagelor care rămân astfel blocate în peretele arterial, continuând să înglobeze lipoproteine și transformându-se în celule spumoase. Totodată LDL oxidate și încorporate în macrofage stimulează metabolizarea acidului arahidonic în aceste celule, ceea ce duce la eliberarea de prostaglandine și leucotriene cu efect proinflamator (2,24). Același efect proinflamator, având ca rezultat creșterea permeabilității vasculare și insudarea de plasmă în spațiile subendoteliale, este exercitat și de diversele citokine produse de monocit/macrofag.

Un alt mecanism de prevenire a supraîncărcării cu esteri de colesterol a peretelui vascular este reprezentat de transportul în revers - de la țesuturi la ficat - al colesterolului. De fapt, esterii de colesterol din particulele de LDL înglobate în macrofage sunt hidrolizați sub

acţiunea colesterolesterhidrolazei acide, iar colesterolul eliberat trece prin membrana lizozomală în citoplasmă şi de aici spre membrana externă a celulei. Dacă în mediul extracelular există cantităţi adecvate de HDL, acestea preiau colesterol din membrana celulelor şi previn supraîncărcarea. "Excreţia" de colesterol de către macrofage este însoţită de sinteza şi secreţia de apo E care se fixează împreună cu colesterolul pe HDL (9). De notat că transportul în revers al colesterolului nu asigură şi îndepărtarea apoproteinei B_{100} cu rol aterogen.

Pricipalele mecanisme care duc la formarea de celule spumoase sunt prezentate în figurile 1.12 şi 1.13.

Este important de precizat că o parte a celulelor spumoase se lizează eliberând în mediul extracelular material lipidic, hidrolaze lizozomale şi radicali superoxizi cu efecte toxice asupra celulelor din vecinătate (celule musculare netede şi celule endoteliale).

1.4.2. PROLIFERAREA CELULELOR MUSCULARE NETEDE ŞI FORMAREA DE ŢESUT CONJUNCTIV

Acest proces contribuie în mod esenţial la îngroşarea plăcii ateromatoase şi implicit la îngustarea lumenului vascular. S-a demonstrat că proliferarea celulelor musculare netede este declanşată sub acţiunea unor aşa-numiţi "factori de creştere" sau "factori mitogeni". Iniţial aceşti factori au fost identificaţi în plăcuţele sanguine, de unde şi denumirea de PDGF (platelet derived growth factors). Ulterior s-a arătat că astfel de factori pot fi sintetizaţi şi eliberaţi şi de alte celule din peretele vascular (celule endoteliale, celule musculare netede şi monocite/macrofage). Celulele musculare proliferate dobândesc proprietăţi secretorii producând fibre de colagen, elastină şi proteoglicani care realizează o capsulă fibroasă ce include un material cremos gălbui alcătuit din celule spumoase, detritusuri celulare şi material lipidic extracelular (athero = terci). Ulcerarea acestei plăci, respectiv perforarea capsulei fibroase face ca terciul mai sus menţionat şi bogat în factor tisular, care activează coagularea, să vină în contact cu lumenul vascular şi deci cu elementele sângelui circulant, determinând complicaţii trombotice.

Pentru patologia clinică este important de precizat că deşi proliferarea celulelor musculare netede şi implicit formarea de ţesut fibros îngustează lumenul vascular, acest proces

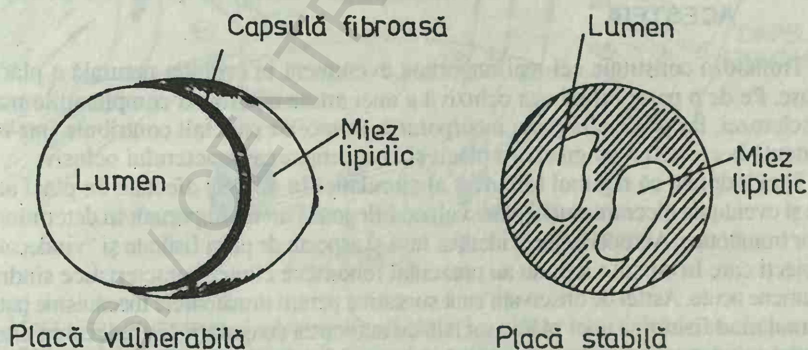


Fig.1.14. Reprezentarea schematică a diferenţelor între o placă "vulnerabilă" şi una stabilizată. De multe ori o placă vulnerabilă are un lumen bine păstrat, deoarece, iniţial, placa aterosclerotică se dezvoltă spre exterior. Astfel de plăci au însă o capsulă fibroasă subţire, astfel încât separarea sângelui circulant faţă de bogatul material lipidic din placă nu este pe deplin asigurată, iar în cazul unei fisuri se expune factor tisular din celulele spumoase cu efect protrombotic.

contribuie la integritatea plăcii ducând la o placă ateromatoasă stabilă care corespunde pe plan clinic anginei stabile, o afecţiune relativ benignă. Dimpotrivă, plăcile având o capsulă fibroasă subţire şi care sunt bogate în celule spumoase şi material lipidic, se pot fisura mai uşor (mai ales pe marginea lor) şi duc la formarea de trombi şi respectiv la sindroame coronariene acute ca angina instabilă, infarctul miocardic şi moartea subită (36) (vezi fig. 1.14).

1.4.3.MECANISME IMPLICATE ÎN DESTABILIZAREA UNEI PLĂCI ATEROSCLEROTICE ŞI PRODUCEREA UNEI PLĂCI VULNERABILE

Aşa cum s-a arătat mai sus, celulele musculare netede constituie un fel de paznici ai integrităţii capsulei fibroase a plăcii ateromatoase. Activitatea acestor celule în procesele de sinteză şi secreţie a fibrelor de colagen este reglabilă, fiind potenţată de PDGF şi mai ales de către factorul de creştere transformant beta (TGF-beta, transforming growth factor beta).

Pe de altă parte, activitatea secretorie a celulelor musculare netede precum şi proliferarea acestora este puternic inhibată de către interferonul gama (IFN-γ) produs de limfocitele T, prezente mai ales în zonele vulnerabile (subţiate) ale capsulei fibroase. Slăbirea capsulei fibroase este accentuată şi prin intervenţia unor enzime de tipul metaloproteinazelor (colagenaze, gelatinaze, stromelizine) care produc degradarea unui spectru larg de constituenţi ai matricei extracelulare, inclusiv a colagenului, elastinei şi proteoglicanilor. De notat că sinteza şi eliberarea acestor enzime din celulele plăcii ateromatoase este stimulată de către citokinele proinflamatorii cum sunt interleukina 1 (IL-1) şi factorul de necroză a tumorilor (TNF) produse de monocite/macrofage activate şi mai ales de către cele care au înglobat LDL oxidate (celule spumoase).

Se poate deci considera că un proces inflamator torpid (mocnit) la nivelul plăcii şi prezenţa de limfocite T sunt în măsură să subţieze capsula fibroasă atât prin reducerea sintezei de ţesut conjunctiv cât şi printr-o degradare accelerată a componentelor acestui ţesut. O astfel de "placă vulnerabilă" se poate fisura ducând la complicaţii trombotice (36) (Vezi fig.1.15).

1.4.4. ROLUL TROMBOZEI ÎN ATEROSCLEROZĂ ŞI ÎN COMPLICAŢIILE ACESTEIA

Tromboza constituie cel mai important eveniment în evoluţia naturală a plăcii ateromatoase. Pe de o parte, tromboza ocluzivă a unei artere determină complicaţiile majore ale aterosclerozei, iar pe de altă parte încorporarea trombilor parietali contribuie într-o măsură importantă la creşterea progresivă a plăcii şi la accentuarea caracterului oclusiv.

Fără îndoială că regimul turbulent al circulaţiei în arterele afectate de plăci aterosclerotice şi eventuala ulcerare a unei plăci vulnerabile joacă un rol important în determinarea proceselor trombotice. Autopsiile au evidenţiat însă şi aspecte de plăci fisurate şi "vindecate" local, la subiecţi care în cursul vieţii nu au prezentat fenomene clinice caracteristice sindroamelor coronariene acute. Astfel de observaţii sunt sugestive pentru următoarele mecanisme patogenice. În primul rând fisurarea unei plăci asociată cu activarea coagulării şi vindecarea ulterioară a ulceraţiei ar putea reprezenta o cale majoră a progresiune a leziunilor aterosclerotice. În al doilea rând, se poate presupune că evoluţia spre o tromboză oclusivă, în cazul unei fisurări a plăcii, depinde de o eventuală predispoziţie la tromboză a pacientului, cauzată de o hiperreactivitate a plăcuţelor, de o hipercoagulabilitate şi/sau de o insuficienţă a sistemului fibrinolitic (17).

De fapt, bolnavii aterosclerotici, precum şi subiecţii prezentând factori de risc, prezintă modificări ale echilibrului hemostatic care predispun la formarea de trombi, şi care pot fi, cel puţin în parte sau indirect corelate cu perturbarea metabolismului lipidic. Aşa de exemplu, creşterea reactivităţii plăcuţelor la bolnavii cu hipercolesterolemie familială şi leziuni aterosclerotice a fost pusă în legătură nu numai cu regimul de curgere a sângelui într-un teritoriu arterial cu numeroase zone de leziune, dar şi cu o creştere a colesterolului în membrana plăcuţelor sanguine (11).

Se ştie de asemenea că la subiecţii cu hiperlipemie familială combinată (tip II b şi IV), şi mai ales la cei care prezintă obezitate intraabdominală (androidă), accelerarea sintezei hepatice de VLDL se asociază cu o creştere a nivelului plasmatic al unor factori ai coagulării (mai ales factorul VII), al factorului XIII stabilizator al fibrinei, al fibronectinei, al fibrinogenului şi al inhibitorilor activării plasminogenului (PAI), toate aceste variabile cu rol în hemostază, fiind şi ele sintetizate în ficat (15, 48). Se poate deci presupune că într-o plasmă bogată în factor VII coagularea se va activa mai intens în contact cu factorul tisular din membrana celulelor spumoase ieşite din placa fisurată sau expus la suprafaţa endoteliilor vasculare adiacente plăcii aterosclerotice.

Apare de asemenea logic să se considere că un tromb mai bogat în fibronectină, în factor XIII şi în inhibitori ai fibrinolizei va fi mai rezistent la fibrinoliză şi mai rapid încorporat în straturile subendoteliale ale peretelui vascular. Reamintim că sub acţiunea factorului XIII se încorporează inhibitori ai fibrinolizei (în speţă α_2 antiplasmină) în reţeaua de fibrină şi se stabilesc legături covalente între monomerii de fibrină, între aceşti monomeri şi fibronectină, iar prin intermediul acesteia cu fibrele de colagen (15). Exagerarea acestor procese, care până la un anumit punct au un caracter reparator, se poate solda cu tromboză oclusivă. La dezvoltarea acesteia joacă un rol important şi modificările patologice ale endoteliilor vasculare (15,17).

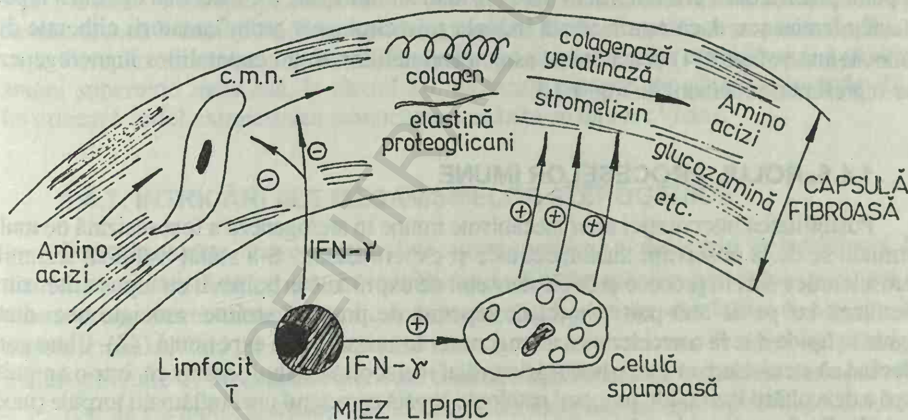


Fig.1.15. Mecanisme prin care o placă aterosclerotică devine vulnerabilă. Celulele musculare netede (c.m.n.) sintetizează din aminoacizi matricea proteică extracelulară, respectiv colagen, elastină şi proteoglicani care formează capsula fibroasă a unei plăci. Limfocitele T, pătrunse în placă, inhibă însă acest proces secretând interferon-gama (IFN-γ). Tot prin intermediul IFN-γ se stimulează secreţia unor proteinaze (colagenază, gelatinază, stromelizin) de către macrofage şi de către celulele spumoase. Aceste proteinaze degradează colagenul şi elastina slăbind astfel capsula fibroasă (după Libby (36)).

1.4.5. ANOMALII ALE ENDOTELIILOR

Datele experimentale au demonstrat că deendotelizarea repetată a unei artere cu ajutorul unui cateter prevăzut cu un balon gonflabil este urmată de dezvoltarea unor plăci ateromatoase în zonele lezate. Cercetările mai recente au arătat însă că denudarea endotelială nu este o trăsătură constantă şi mai ales nu constituie o modificare precoce în ateroscleroza indusă de hipercolesterolemie. De fapt, răspunsul endoteliilor la o varietate de stimuli nocivi nu implică în mod necesar un proces de necroză şi denudare, ci se traduce prin modificări mai subtile ale funcţiei (disfuncţie endotelială) sau prin inducerea de noi proprietăţi ale endoteliilor. Aşa de exemplu, citokinele proinflamatorii (IL-1) precum şi lizolecitina generată în particulele de LDL (şi de VLDL) oxidate induc, **încă din etapele iniţiale ale aterogenezei**, sinteza unor proteine cum sunt ELAM (endothelium leukocyte adhesion molecule) şi VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule) care, aşa cum le spune numele, asigură aderarea monocitelor la peretele vascular (20). Tot sub acţiunea citokinelor, endoteliile îşi modifică proprietăţile hemostatice, eliberând factor von Willebrand care asigură aderarea mai fermă a plăcuţelor la straturile subendoteliale, expunând la suprafaţă factor tisular cu rol în iniţierea coagulării şi reducându-şi activitatea profibrinolitică (4,15).

Există dovezi experimentale conform cărora hipercolesterolemia ar perturba procesul de relaxare a vaselor şi care este mediat de agenţii eliberaţi din endotelii. Se pare că acest efect al hiperlipidemiei, care predispune la spasme vasculare, s-ar datora unei degradări oxidative accelerate a factorului de relaxare derivat din endotelii (EDRF), respectiv a oxidului nitric (NO), sub acţiunea anionilor superoxid generaţi din particulele de LDL oxidate, din celulele spumoase şi chiar de către endoteliile subiecţilor hipercolesterolemici. S-a mai arătat că enzima implicată în producerea anionilor superoxid ar fi xantinoxidaza endotelială, dar nu s-a putut preciza dacă creşterea activităţii enzimei amintite este o consecinţă directă a hipercolesterolemiei sau dacă este mediată indirect prin citokinele proinflamatorii eliberate din monocite/macrofage (24) şi acţionând asupra endoteliilor. Rolul endoteliilor în aterogeneză este reprezentat schematic în Fig. 1.16.

1.4.6. ROLUL PROCESELOR IMUNE

Posibilitatea intervenţiei unor mecanisme imune în aterogeneză a fost sesizată de mult, pornindu-se de la observaţii anatomoclinice şi experimentale. S-a arătat astfel că leziunile aterosclerotice survin precoce şi devin deosebit de exprimate la bolnavii cu lupus eritematos diseminat, iar pe de altă parte, injecţiile repetate de proteine străine, asociate unei diete bogate în lipide duc la o accelerare a aterogenezei la animalele de experienţă (42). Chiar considerând că ateroscleroza este o boală primordial metabolică, trebuie admis că, într-o anumită etapă a dezvoltării leziunilor, procesul patologic capătă caracterul unei inflamaţii torpide (mocnite) (2). De fapt, din cele relatate pe parcursul acestui subcapitol s-a putut deduce că penetrarea monocitelor în peretele vascular, are, iniţial, semnificaţia unei reacţii de apărare, dar că, prin blocarea lor în peretele vascular, aceste celule cu rol în imunitate ajung să genereze citokine proinflamatorii cu rol în întreţinerea şi progresiunea procesului patologic (54).

De asemenea, infiltrarea cu limfocite, care lipsesc din arterele normale, modulează proliferările celulare din placa ateromatoasă, iar, prin intermediul IFN-γ, contribuie la reducerea capsulei fibroase şi la dezvoltarea unei plăci vulnerabile.

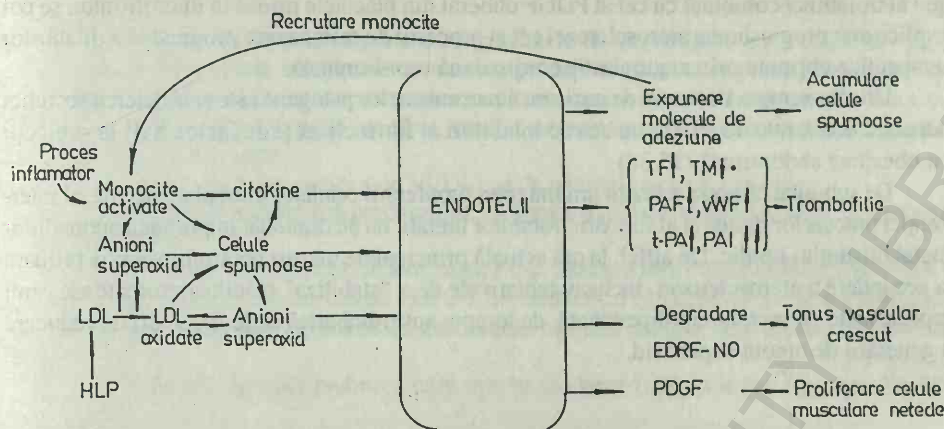


Fig.1.16. Reprezentare schematică a "disfuncţiei endoteliale" survenită în cursul aterogenezei. HLP - hiperlipoproteinemie; TF - factor tisular; TM - trombomodulină; PAF - factor activator al plăcuţelor; vWF - factor von Willebrand; t-PA - activator tisular al plasminogenului; PAI - inhibitor al t-PA; EDRF-NO - factor de relaxare derivat din endotelii - oxid nitric. PDGF - factor de creştere derivat din plăcuţe (produs însă şi de către celulele endoteliale, monocite/macrofage şi celule musculare netede). Endoteliile apar astfel ca un integrator al stimulilor fiziopatologici în aterogeneză.

S-a mai arătat că modificările oxidative ale LDL generează noi epitopi antigenici în apo B_{100}, faţă de care se pot dezvolta anticorpi şi implicit formarea de complexe imune în peretele vascular, creându-se astfel premize şi pentru activarea sistemului complement. De fapt, s-a putut evidenţia prezenţa unei forme activate a complementului, aşa-zisul complex de atac al membranei (C5b-9) la suprafaţa celulelor lezate din placa ateromatoasă (50).

Complexele imune conţinând LDL activează şi macrofagele care eliberează citokine şi anioni superoxid inducând, la rândul lor, molecule proteice de adeziune în endotelii. Se favorizează astfel extravazarea monocitelor creându-se un cerc vicios.

1.4.7. INTRICĂRI ALE MECANISMELOR ATEROGENICE

Din cele expuse, reiese cu prisosinţă natura complexă a biochimiei aterosclerozei. Deşi diverse teorii insistă asupra primordialităţii unui anumit mecanism patogenic sau a unei anumite secvenţe a evenimentelor implicate în aterogeneză, tendinţa actuală este de a se considera ateroscleroza ca fiind un răspuns al peretelui vascular la o varietate de agenţi iniţiatori şi că o **multiplicitate de mecanisme intricate contribuie la formarea leziunilor aterosclerotice**.

Aşa de exemplu, particulele de LDL oxidate atrag monocitele, iar formele activate ale acestor celule generează citokine proinflamatorii, prostaglandine şi leukotriene care accentuează insudarea de LDL în peretele vascular şi totodată favorizează elaborarea de radicali superoxid cu rol în oxidarea particulelor de LDL (54).

Tot aşa, celulele spumoase bogate în factor tisular şi ajunse în contact cu sângele circulant, ca urmare a perforării unei plăci, activează coagularea, iar trombina rezultată intervine nu doar în fibrinoformare dar şi în stimularea proceselor de proliferare şi migrare a celulelor musculare netede care sunt prevăzute cu receptori faţă de trombină (3). Prin acest efect mito-

gen al trombinei combinat cu cel al PDGF eliberat din plăcuţele prinse în microtrombi, se pot explica atât progresiunea aterosclerozei cât şi procesul de restenozare progresivă a dilatărilor terapeutice obţinute prin angioplastie coronariană transluminală.

Un alt exemplu ilustrativ de intricare a mecanismelor patogene este şi asocierea secreţiei hepatice accelerate de VLDL cu cea de inhibitori ai fibrinolizei şi de factor XIII la subiecţii cu obezitate abdominală (15,38).

De subliniat că noile achiziţii privind rolul proliferării celulelor musculare netede, al intervenţiei proceselor imune şi al formării trombilor murali, nu au diminuat importanţa anomaliilor metabolismului lipidic. De altfel, la ora actuală principalele măsuri pentru profilaxia primară şi secundară a aterosclerozei, inclusiv tentativele de a "stabiliza" plăcile ateromatoase, sunt reprezentate de terapia hipolipemiantă, de terapia antitrombotică şi de încercări de reducere a generării de anioni superoxid.

1.5. BAZELE BIOCHIMICE ALE TERAPIEI HIPOLIPEMIANTE

Indicaţii majore ale terapiei hipolipemiante sunt: a) pancreatita recurentă (survenită în tipurile I şi V); b) prezenţa xantoamelor; c) profilaxia primară şi secundară a aterosclerozei. Trebuie arătat că în multe cazuri un regim dietetic adecvat este în măsură să influenţeze în mod favorabil hiperlipidemia, astfel încât tratamentul medicamentos va fi aplicat mai ales în situaţii în care măsurile dietetice s-au dovedit ineficiente.

1.5.1. MĂSURI IGIENO-DIETETICE

În principiu, regimul igieno-dietetic ar trebui introdus cât mai precoce şi pe cât posibil adaptat la mecanismul de producere a hiperlipoproteinemiei. Aşa de exemplu, în cazurile de hipertrigliceridemie endogenă asociată obezităţii androide, regimul dietetic va trebui să ducă la slăbire şi va fi nu numai sărac în lipide saturate, dar şi hipocaloric, insistându-se asupra reducerii glucidelor rafinate. Se recomandă mese frecvente dar sărace în calorii, conţinând mai ales peşte, carne slabă, crudităţi sub formă de salate cu uleiuri vegetale conţinând acizi graşi polinesaturaţi. În cazurile de hipercolesterolemie se insistă asupra reducerii consumului de colesterol şi grăsimi saturate.

American Heart Association recomandă o dietă în care grăsimile să nu depăşescă 30% din totalul caloriilor, raportul între grăsimile saturate şi cele nesaturate să fie în jur de 1, iar colesterolul din alimente să fie sub 300 mg/zi (nu mai mult de doua gălbenuşuri de ou pe săptămână).

Aplicarea unui astfel de regim întâmpină însă dificultăţi deoarece: a) mulţi subiecţi nu aderă cu plăcere la un regim sărac în lipide şi destul de insipid; b) nu toţi subiecţii sunt dispuşi să dezvolte hiperlipidemie la o dietă mai variată; c) nu se poate exclude popsibilitatea ca un regim prea sărac în lipide să ducă la alte îmbolnăviri; d) nu toţi subiecţii hiperlipidemici dezvoltă ateroscleroză precoce.

Din acest motiv regimurile stricte vor fi recomandate mai ales subiecţilor hiperlipidemici în a căror familii s-au semnalat frecvente cazuri de infarct miocardic sau accidente vasculare cerebrale, iar atunci când regimul dietetic nu a dat rezultate satisfăcătoare se va trece la medicaţia hipolipeminată.

1.5.2. MEDICAMENTE CU EFECT HIPOLIPEMIANT

Este important de ştiut că toate medicamentele hipolipemiante au şi efecte secundare, că nici unul din aceste medicamente nu este pe deplin eficient în toate tipurile de hiperlipoproteinemie şi că la încetarea terapiei medicamentoase anomaliile de metabolism lipidic revin. În funcţie de principalul lor efect, medicamentele hipolipemiante ar putea fi împărţite în următoarele categorii:

a. agenţi care reduc sinteza de VLDL, ca de exemplu acidul nicotinic;

b. agenţi care accelerează procesele de clearence a trigliceridelor din VLDL, ca de exemplu clofibratul;

c. agenţi care accelerează catabolizarea LDL, aşa cum sunt colestiramina şi colestipolul;

d. medicamente care inhibă HMG-CoA-reductaza şi frânează sinteza endogenă de colesterol şi care sunt reprezentate de diverse aşa-zise statine (Lovastatin, Simvastatin, Pravastatin);

e. preparate de tipul probucol care previn oxidarea LDL şi reduc formarea de celule spumoase.

1.5.2.1. ACIDUL NICOTINIC ŞI ANALOGII SĂI

Preparatele de acid nicotinic (Niconacid, Xavin) reduc sinteza hepatică de VLDL fiind indicate în cazurile în care hiperlipoproteinemia este cauzată prin exagerarea sintezei acestor lipoproteine bogate în trigliceride. De fapt, astfel de preparate s-au dovedit eficiente la subiecţi cu obezitate intraabdominală şi hipertrigliceridemie (tipurile IIb, III, IV şi V).

Mecanismul intim de acţiune constă în potenţarea fosfodiesterazei din ţesutul adipos şi deci în degradarea accelerată a cAMP (vezi Fig. 1.4). Ca urmare se reduce lipoliza trigliceridelor din ţesutul adipos intraabdominal şi implicit scade fluxul de acizi graşi spre ficat, ceea ce se traduce prin scăderea sintezei hepatice de VLDL. Acidul nicotinic este însă contraindicat la subiecţii cu afecţiuni hepatice sau cu boală ulceroasă. Aceste preparate pot produce şi eriteme, prurit, iritaţii oculare, fenomene care pot fi atenuate prin administrarea unei tablete de aspirină zilnic. Terapia cu acid nicotinic se începe cu 100 mg de trei ori pe zi în timpul meselor, crescându-se dozele progresiv până la de 3 x 1 g/zi (doza maximă fiind de 9 g/zi).

Analogi sintetici ai acidului nicotinic (Acipimox, Olbetam) exercită efecte hipotrigliceridemiante mai puternice, având efecte colaterale mai reduse şi fiind deci mai bine tolerate. În doze de 750-1250 mg/zi (fracţionate în timpul meselor) aceste preparate scad cu 30-40% trigliceridele şi colesterolul din VLDL, reduc colesterolul din LDL cu aproximativ 20 % şi cresc colesterolul din HDL cu 20%. De notat că acidul nicotinic şi analogii săi produc şi o scădere a apoproteinei B_{100} (22,51). Pe lângă aceste efecte benefice asupra metabolismului lipidic, analogii de acid nicotinic par să reducă rezistenţa la insulină şi să amelioreze toleranţa la hidraţi de carbon în cazurile de diabet supraponderal noninsulinodependent. Deşi, spre deosebire de acidul nicotinic, analogii săi nu produc creşteri ale acidului uric şi nici creşteri trecătoare ale transaminazelor, este bine ca aceste examinări să fie efectuate împreună cu explorarea metabolismului lipidic şi glucidic la pacienţi trataţi cu astfel de preparate (35).

1.5.2.2. DERIVAŢII ACIDULUI IZOBUTIRIC (FIBRAŢI)

Primul compus din această categorie utilizat în terapia hiperlipoproteinemiilor a fost clofibratul (acid p-cloro-fenoxiizobutiric). Administrat în doze de 2 x 1 g/zi clofibratul reduce cu

aproximativ 30% trigliceridele şi colesterol din VLDL, având o slabă influenţă asupra colesterolului din LDL şi producând o uşoară creştere a HDL colesterolului. Aceleaşi efecte sunt produse de diverşi derivaţi ai acidului fibric, care sunt bine toleraţi şi pot fi utilizaţi în doze mai mici (2 x 450-600 mg/zi în cazul gemfibrozilului, 300-400 mg/zi în cazul fenofibratului, 400 mg/zi în cazul terapiei cu bezafibrat şi doar 100 mg/zi pentru ciprofibrat).

Mecanismul de acţiune al fibraţilor constă din potenţarea îndepărtării trigliceridelor din VLDL şi implicit din accelerarea catabolizării acestor particule care se transformă în IDL şi LDL urmând a fi captate în receptori. Se consideră că acest efect de accelerare a catabolizării VLDL se realizează prin stimularea activităţii lipoproteinlipazei şi mai puţin a lipazei hepatice, atât direct cât şi prin intermediul creşterii concentraţiei de apo C-II. Ca urmare a catabolizării accelerate a VLDL în cursul unei astfel de terapii la un bolnav cu HLP tip IV, se poate ajunge uneori la uşoare creşteri ale LDL care pot fi mai accentuate la subiecţii cu un echipament deficitar de receptori pentru LDL. În majoritatea cazurilor, terapia cu fibraţi facilitează însă descărcarea colesterolului în ficat şi eliminarea lui în bilă. Dacă sinteza de acizi biliari nu ţine pasul cu eliminările de colesterol în bilă, se ajunge la dezvoltarea unei bile litogene şi la formarea calculilor biliari de colesterol.

Administrate subiecţior cu HLP tip IIb şi IV, diverşii fibraţi produc pe lângă scăderea VLDL şi o accelerare a fibrinolizei, o scădere a fibrinogenemiei şi a factorului XIII precum şi o tendinţă de normalizare a hiperreactivităţii plăcuţelor sanguine. Toate aceste efecte sunt în măsură să explice reducerea incidenţei sindroamelor coronariene constatată în studii prospective la bolnavii hiperlipemici trataţi cu fibraţi (22,51). Pe de altă parte, clofibratul, şi în mai mică măsură derivaţii de acid fibric, par să favorizeze apariţia litiazei biliare, iar în unele cazuri afectează musculatura producând astenie, mialgie şi chiar fenomene de miopatie cu creşterea nivelului seric al creatinfosfokinazei (CK). Controlul de laborator al terapiei ar trebui să vizeze şi aceste aspecte putând uneori surprinde şi creşteri tranzitorii ale transaminazelor (44).

1.5.2.3. SECHESTRANŢI AI ACIZILOR BILIARI (COLESTIRAMINA ŞI COLESTIPOLUL)

Aceşti agenţi terapeutici sunt răşini schimbătoare de ioni care, având numeroase grupări electropozitive, leagă în intestin acizii biliari electronegativi, împiedicând reabsorbţia lor şi blocând circuitul enterohepatic al acestora. Ca urmare a depleţiei în acizi biliari, o mai mare cantitate de colesterol va fi transformată în acizi biliari, scăzând astfel conţinutul de colesterol al hepatocitelor. În consecinţă, celulele hepatice îşi cresc numărul de receptori pentru LDL (şi IDL) potenţându-se astfel captarea şi degradarea acestor particule lipoproteice.

Pe de altă parte, scăderea colesterolului din hepatocite duce la dereprimarea HMG-CoA reductazei şi la creşterea sintezei hepatice de colesterol. Deşi efectul benefic al creşterii numărului de receptori este parţial contracarat de creşterea sintezei de colesterol, preparatele de colestiramină (Questran, Cuemid) luate în doze de 3 x 5 g până la 3 x8 g/zi sau cele de colestipol (3 x 5g până la 3 x 10 g/zi) produc o scădere cu 20-30% a colesterolemiei, în timp ce trigliceridele serice pot creşte uşor. Ca urmare, aceste medicamente sunt indicate mai ales în cazul heterozigoţilor cu hipercolesterolemie familială (HLP tip II a) iar efectul hipocolesterolemiant este potenţat de asocierea cu inhibitori de HMG-CoA reductază (vezi mai jos). De notat că sechestranţii de acizi biliari (colestiramină, colestipol) se dau sub formă de pastă cu apă sau suc în timpul meselor şi că aceste preparate împiedică şi absorbţia acidului folic.

a vitaminelor liposolubile precum şi a unor medicamente cum sunt digoxina, tiroxina, antivitaminele K şi fibraţii. Se recomandă deci ca preparatele de colestiramină să nu se administreze concomitent cu alte medicaţii. Alte efecte colaterale ale sechestranţilor de acizi biliari constau în senzaţia de plenitudine abdominală, constipaţie şi greaţă (40.51).

1.5.2.4. INHIBITORI DE HMG-COA REDUCTAZĂ (STATINE)

Aceste medicamente introduse relativ recent în terapia hipercolesterolemiilor s-au dovedit deosebit de eficiente în accelerarea elaborării de receptori pentru LDL şi implicit în favorizarea degradării acestor particule. Diverşii inhibitori de HMG-CoA reductază au o structură similară cu HMG-CoA, substratul reductazei, şi inhibă prin mecanism competitiv activitatea enzimei, substituidu-se substratului în centrul activ al enzimei. Ca urmare a scăderii sintezei de colesterol şi a reducerii conţinutului de colesterol al celulei, se elaborează în cantităţi sporite receptorii care captează LDL din lichidul extracelular, scăzând numărul acestor particule din circulaţie şi furnizând colesterol celulelor.

Laboratorul evidenţiază o scădere cu 20-40% a colesterolului şi o scădere mai discretă a trigliceridelor.

S-au elaborat o serie de compuşi cu structură şi mecanism de acţiune similare şi denumiri ca Lovastatin, Simvastatin, Pravastatin cunoscute şi sub denumiri comerciale ca Zocor sau Denan. Dozele administrate sunt de 20-80 mg/zi în cazul preparatelor de lovastatin şi de 10-40 mg/zi pentru celelalte statine.

Efectele secundare survin extrem de rar şi constau din suferinţe ale musculaturii (uneori evoluând cu creşteri ale CK) şi creşteri tranzitorii şi asimptomatice ale transaminazelor (5,22,,51).

De subliniat că asocierea acestor medicamente cu sechestranţii de acizi biliari (colestiramină) s-a dovedit deosebit de eficientă în tratarea heterozigoţilor cu hipercolesterolemie familială (41) (vezi Fig. 1.17).

1.5.2.5. PROBUCOLUL

Întrucât administrarea orală de probucol (2 x 500 mg/zi) produce nu numai o scădere a colesterolului din LDL (cu aproximativ 20%) dar şi a colesterolului din HDL (cu 30%), utilizarea acestui compus a fost privită iniţial cu multă rezervă. Studii ulterioare, extinse pe o perioadă de 10 ani, sugerează însă că probucolul ar putea deschide o nouă eră în strategia combaterii farmacologice a aterosclerozei, putând produce nu numai o întârziere a dezvoltării plăcilor ateromatoase dar chiar şi o regresiune a leziunilor (23).

Având o structură similară hidroxitoluenului dibutilat, probucolul este liposolubil şi este dotat cu proprietăţi antioxidante. Ca urmare, probucolul se include în particulele de LDL şi previne oxidarea acestora în peretele arterial. Se reduce astfel efectul chemotactic al LDL oxidate faţă de monocite şi implicit se limitează formarea de celule spumoase. Colesterolul din particulele LDL, pătrunse în peretele arterial dar neoxidate şi neincluse în macrofage, poate fi preluat de către HDL şi transportat în revers spre ficat. Se pare că probucolul favorizează şi acest proces, iar scăderea nivelului de HDL colesterol în cursul acestei medicaţii este interpretată ca fiind dată de o accelerare a captării hepatice a încărcăturii lipidice din HDL2, probabil în legătură cu stimularea de către probucol a activităţii lipazei hepatice. Prevenirea oxidării LDL şi facilitarea transportului în revers a colesterolului (41) sunt în măsură să explice regresiunea aterosclerozei în urma terapiei cu probucol (23).

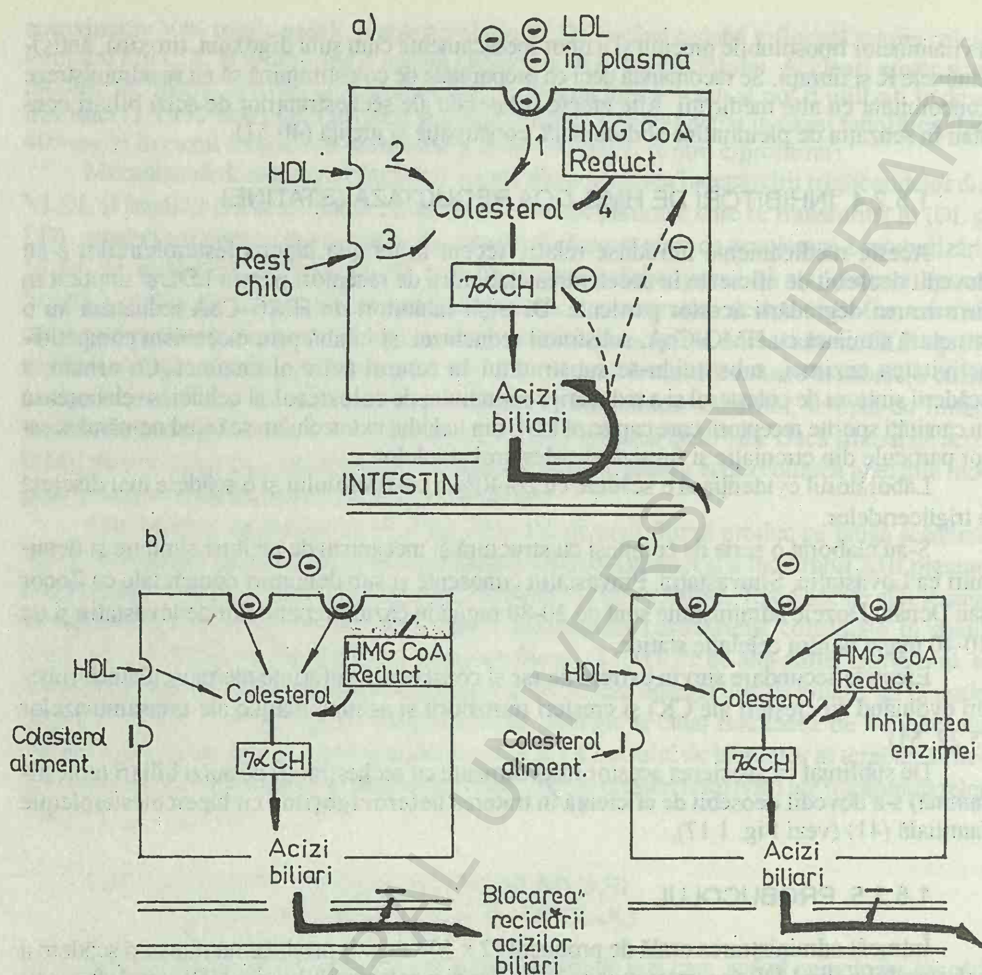


Fig.1.17. Principii de terapie în cazurile de hipercolesterolamie familială (heterozigoţi) prin tentative de creştere a numărului de receptori pentru LDL.

a). **La subiectul netratat** colesterolul din hepatocite poate proveni: 1) din captarea IDL şi LDL (relativ ineficientă în astfel de cazuri); 2) din captarea colesterolului din HDL; 3) din colesterolul alimentar furnizat prin captarea resturilor de chilomicroni; 4) prin sinteză endogenă, proces în care enzima cheie este HMC-CoA-reductază. O bună parte a colesterolului hepatic se transformă în acizi biliari care se elimină prin bilă în intestin, fiind însă reciclaţi în proporţie de 95% exercitând un efect de feedback negativ (Θ) şi reprimând atât 7 alfa-colesterol hidroxilaza (7 α CH) enzima cheie în sinteza acizilor biliari cât şi HMG-CoA reductaza.

b) **Prin reducerea aportului de colesterol alimentar** şi mai ales prin **blocarea reabsorbţiei acizilor biliari** cu colestiramină sau colestipol şi implicit prin accelerarea transformării colesterolului hepatic în acizi biliari, se tinde la scăderea colesterolului din hepatocite, ceea ce creşte sinteza de receptori având drept rezultat o mai bună captare a particulelor de LDL din plasmă. Acest efect este însă parţial contracarat de dereprimarea HMG-CoA reductazei şi de accelerarea consecutivă a sintezei endogene de colesterol.

c) Administrând şi un **inhibitor competitiv al HMG-CoA reductazei**, (lovastatin, simvastatin, pravastatin) se amplifică producerea de receptori şi captarea de LDL al căror nivel va scădea în plasmă.

Tabel 1.8.

Indicații dietetice și medicamentoase în funcție de tipul de hiperlipoproteinemie

Tip	Indicații dietetice	Medicație hipolipemiantă
I	Reducerea grăsimilor (sub 30 g/zi); Se admit grăsimi conținând acizi grași cu lanț mediu de atomi de carbon	-
II a	Reducerea consumului de alimente bogate în colesterol și grăsimi saturate (de origine animală); Se recomandă alimente bogate în reziduuri vegetale și grăsimi nesaturate	Colestiramină, colestipol; Inhibitori de HMG-CoA reductază (statine)
III	Slăbire; Reducerea consumului de colesterol și de grăsimi saturate; Reducerea zaharurilor rafinate; Evitarea alcoolului	Gemfibrozil, acid nicotinic. Analogi de acid nicotinic; Inhibitori de HMG-CoA reductază
II b-IV	Slăbire; Reducerea consumului de colesterol și de grăsimi saturate; Evitarea alcoolului; Regim bogat în proteine și uleiuri vegetale	Acid nicotinic și analogi ai acestuia. Gemfibrozil; Inhibitori de HMG-CoA reductază
V	Slăbire; Reducerea grăsimilor saturate și a zaharurilor rafinate; Evitarea alcoolului; Regim hiperprotidic	Tatonarea cu acid nicotinic, gemfibrozil

1.5.2.6. ALTE MEDICAMENTE CU EFECT HIPOLIPEMIANT

Există multe alte preparate cu efecte hipolipemiante, dar care nu sunt utilizate pe scară largă. Așa de exemplu administrarea pe cale orală a antibioticului **neomicină** (2 x 1 g/zi) a dus la o scădere cu 21% a colesterolului la pacienții cu hipercolesterolemie familială. Chiar și **benzodiazepinele** s-au dovedit a avea un modest efect hipolipemiant. Scăderi ale colesterolului din LDL s-au obținut prin administrarea de D-tiroxină dar aceste efecte au fost contracarate de creșterea nevoilor de oxigen ale miocardului sub efectul D-tiroxinei, care, deși mai slab decât în cazul L-tiroxinei, nu este neglijabil.

Orice terapie hipolipemiantă trebuie asociată unui regim igieno-dietetic adecvat, cu renunțarea la fumat și cu terapia unei eventuale hipertensiuni arteriale (vezi Tabel 1.8).

ADDENDUM

În timp ce manuscrisul se afla în Editură (așteptând sponsorizările) ne-au parvenit date care aruncă o nouă lumină asupra fiziopatologiei țesutului adipos și a mecanismelor implicate în rezistența la insulină a acestui țesut, cu implicații în patogeneza sindromului metabolic și a hiperlipidemiei familiale combinate (FCHL).

S-a demonstrat astfel existenţa unui sistem care include o proteină stimulatoare a acilării (adipsin acylation stimulating protein, ASP) prin care se facilitează reesterificarea acizilor graşi în ţesutul adipos.

În disfuncţia căii mediate de ASP, hidroliza trigliceridelor din adipocite, indusă de stimulări adrenergice, nu ar fi contracarată de o reesterificare a acizilor graşi, soldându-se cu o eliberare excesivă de acizi graşi liberi (60,61). Este evident că o astfel de disfuncţie a mecanismelor dependente de ASP, se validează de o manieră mult amplificată în cazul subiecţilor cu obezitate androidă şi o reactivitate exagerată a beta 3-adenoreceptorilor din ţesutul adipos intraabdominal (38). Eliberarea în exces a acizilor graşi (AGL) creează o rezistenţă faţă de insulină (62) iar factorul de necroză tumorală- (TNF-α) din tesutul adipos mediază această rezistenţă, reducând capacitatea de semnalizare a receptorilor pentru insulină (63,64).

Obezitatea intraabdominală, deficitele pe calea mediată de ASP şi creşterea expresiei TNF-α în ţesutul adipos (şi mai ales asocierea acestor anomalii) ducând la exagerarea mobilizării de AGL, se soldează cu o serie de efecte adverse realizând rezistenţa la insulină în ţesutul adipos şi în cel muscular, iar la nivelul ficatului se induce sinteza de trigliceride şi apo B_{100}, incluse în VLDL precum şi stimularea sintezei unor factori ai coagulării, a inhibitorilor fibrinolizei şi a fibronectinei (15,65). Se ajunge astfel la aspecte umorale carateristice hiperlipidemiei familiale combinate şi sindromului metabolic.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1.Achenbach,H., Kühn,J.H., Lössner,I., Seim,H. Klinische Anwendung des Carnitins unter besonderer Rerücksichtigung des Carnitinmangels. Wiss.Z.Karl-Marx Univ.Leipzig, Math. Naturwiss. R., 1985, 34, 3, 259-272.

2.Alexander,R.W. Inflammation on coronary artery disease. N.Egl.J.Med. 1994, 331, 468-469.

3.Baykal,D., Schmedtje,J.F., Runge, M.S. Role of the thrombin receptor in restenosis and atherosclerosis. Am.J.Cardiol. 1995, 75, 82 B-87B.

4.Bevilacqua M.P., Gimbrone, M.A. Inducible endhothelial functions in inflammation and coagulation. Seminars in thrombosis and hemostasis 1987, 13, 425-433.

5.Blum,C.B. Comparison of properties of four inhibiters of 3-hydroxi-3-methyl-glutaril-coenzime A reductase. Amer. J. Cardiol, 1944, 73, 3D-11D.

6.Boyd,G.S., Craig I.F. Biochemistry of degenerative vascular disease in Williams and Marks (Editors). Biochemistry in Clinical Practice. William Heinemann Medical Books Limited. London 1983 pp.457-473.

7.Breckenridge,W.C., Little, J.A., Steiner,G., Chow,A., Poapst,M. Hypertriglyceridemia associated with a deficiency of apolipoprotein C II. N.Engl.J.Med. 1978, 298, 1265-1273.

8.Brown M.S., Goldstein J.L. Familial hypercholesterolemia: A genetic defect in the low density lipoprotein receptor. N.Engl.J.Med. 1976, 294, 1386-1390.

9.Brown M.S., Goldstein J.L. Lipoprotein metabolism in the macrophage: implications for cholesterol deposition in atherosclerosis. Ann.Rev.Biochem. 1983, 52, 252-261.

10.Chait,A. Secondary hyperlipidemia. J.Clin.Path., 1973, 26 suppl. 5, 69-71.

11.Colman,R.W. Platelet function in hyperbetalipoproteinemia. Thromb. Haemostas. 1978, 39, 284-303.

12. Cucuianu,A., Malide,D., Petrov,L., Paţiu,M., Vlaicu,S., Cucuianu,M. Serum cholesterol and apoprotein B levels and serum cholinesterase activity in selected hematologic malignancies. Rev.Roum.Med.Int. 1992, 30, 261-268.

13.Cucuianu,M., Deac,M., Bornuz,F., Macavei,I. Effect of L-asparaginase therapy upon some indices of protein metabolism in leukemic patients. Rev.Roum.Med.Int. 1973, 10, 121-131.

14.Cucuianu,M., Rus,H.G., Niculescu,D., Vonica,A. Biochimie.Aplicatii clinice. Ed.Dacia Cluj-Napoca,1991.

15.Cucuianu,M., Trif,I., Cucuianu,A. Hemostaza. Biochimie, Fiziopatologie clinică. Ed.Dacia Cluj-Napoca,1994.
16. Demant, Th., Shepherd,I., Packard,C.J. Very low density lipoprotein apolipoprotein B metabolism in humans. Klin wschr., 1988, 66, 703-712.
17.Falk,E., Fernandez-Ortiz, A. Role of thrombosis in atherosclerosis ant its complications. Am.J.Cardiol., 1995, 75, 5 B-11 B.
18. Goldstein,I.L., Brown, M.S. The low density lipoprotein pathway and its relation to atherosclerosis. Ann.Rev.Biochem., 1977, 46, 897-930.
19.Fredrickson,D.S., Levy,R.I., Lees,R.S. Fat transport in lipoproteins - an integrated approach to mechanisms and disorders. N.Engl.J.Med. 1967, 276, 34-44; 94-103; 148-156; 215-225; 273-281.
20.Gimbrone,A. Vascular endothelium, an integrator of pathophysiologic stimuli in atherosclerosis. Am.J.Cardiol., 1995, 75, 67 B-70 B.
21.Gresham,G.A., Howard,A.N., McQueen,J.M., Bowyer,D.E. Atherosclerosis in primates. Brit.J.Exptl.Pathol., 1965, 46, 94-103.
22.Grundy,S.M. Atherogenic dyslipidemia. Lipoprotein abnormalities and implication. Am.J.Cardiol., 1995, 75, 45 B-52 B.
23.Gwynne,I.T., Schwartz,C.I. (Guest Editors). A symposium: Hypercholesterolemia and the probucol experience. Amer.J. Cardiol. 1988, 62, nr.3 (incluzând o serie de articole pp.1 B-81B).
24.Harrison,D.G., Ohara,Y. Physiologic consequence of increased vascular oxidant stress in hypercholesterolemia and atherosclerosis. Amer.J.Cardiol., 1995, 75, 75 B-81 B.
25.Havel,R.J. Role of the liver in atherosclerosis. Arteriosclerosis, 1985, 5, 569-580.
26.Howard,G.C., Pizzo,S.V. Biology of disease. Lipoprotein (a) and its role in atherothrombotic disease. Laboratory investigation 1993, 69, 373-386.
27.Herbert,P.M., Assman,G., Gotto,A.M., Fredrickson,D.S. Familial lipoprotein deficiency: abetalipoproteinemia, hypobetalipoproteinemia and Tangier diseas in Stanbury, Wyngaarden, Fredrickson, Brown (Editors). The metabolic basis of inherited disease Mc Graw-Hill, New Yiork, 1982, 598-651.
28.Kannel,W.B., Costelli,W.P., Gordon,T. Cholesterol in the prediction of atherosclerotic disease. New perspectives based on the Framingham study. Ann.Intern.Med. 1979, 90, 85-91.
29.Katz,L.N., Stamler,J. Experimental atherosclerosis. C.C.Thomas Springfield 1953, 3-5.
30.Keys,A., Taylor,H.L., Bleckburn,H., Brozek,J., Anderson,J.T., Simonson,E. Coronary heart disease among Minesota business and profesional men followed fifteen years. Circulation 1963, 28, 381-395.
31.Kita,T., Brown, M.S., Bilheimer,D.W., Goldstein,J.L. Delayed clearance of very low density and intermediate density lipoprotein with enhanced conversion to low density lipoprotein in WHHL rabbits. Proc.Natl.Acad.Sci.USA, 1982, 79, 5693-5697.
32. Kissebah,A.H., Alfarsi,S., Adams,P.W. Integrated regulation of very low density lipoprotein trygliceride and apolipoprotein B kinetics in man: normolipemic subjects, familial hypertriglycemia and familial hyperlipidemia. Metabolism 1981, 30, 865-868.
33.Krauss,R.M., Dense low density lipoproteins and coronary artery disease. Am.J.Cardiol. 1995, 75, 53 B-57 B.
34.Lamb,R.J., Fallon,H.J. An enzymatic explanation for dietary induced alteration in hepatic glycerolipid metabolism. Biochim.Buiophys.Acta 1974, 338, 179-188.
35. Lavezzari,M., Milanesi,E., Oggioni,E., Pamparana,F. Results of a phase IV study carried out with acipimox in type II diabetic patients with concomitant hyperlipidaemia. J.Internat.Med.Res.1989, 17, 373-380.
36.Libby,P. Molecular bases of the acute coronary syndromes. Circulation, 1995, 91, 2844-2850.
37.Linder,M.E., Gilman,A.G. G-Proteines. Scientific American 1992, 267, 56-65.
38.Lönnqvist,F., Thörne,A., Njlsell,K., Hoffsted,J., Arner,P. A pathogenic role of visceral fat beta 3-adrenoreceptors in obesity. J.Clin.Invest. 1995, 95, 1109-1116.
39. Mayes,P. Metabolism of lipids in Harper H.A. (Editor). Review of Physiological Chemistry 14 th edition Lange Med Publ. Los Altos, calif. 1973, 268-310.

40.Mabuchi,H., Sakay,T., Yoshimura,A., Watanabe, A., Wakasugi,T., Koizumi,J., Takeda, R. Reduction of serum cholesterol in heterozygous patients with familial hypercholesterolemia. Additive effects of compactin and cholestyramine. N.Engl.J.Med. 1983, 308, 609-613.
41.Matzuzawa,Y., Yamashito,S., Funahaschi,T., Yamamoto,A., Tarni,S. Selective reduction of cholesterol, in HDL_2 fraction by probucol in familial hypercholesterolemia and hyper HDL_2 cholesterolemia with abnormal cholesteryl ester transfer. Amer.J.Cardiol. 1988, 62, 66 B-72 b.
42.Minick,C.R., Alonso,D.R., Rankin,L. Role of immunologic arterial injury in atherogenesis. Thromb.Haemostas. 1978, 39, 304-311.
43.Moga,A., Hărăguş,S. Ateroscleroza Ed.Academiei RPR, Bucureşti, 1963.
44.Monk,J.F., Todd,P.A. Bezafibrate: A Review.Drugs, 1987, 33, 539-576.
45. Nikkila,E.A. Metabolism of plasma triglycerides in endogenous hypertriglyceridemia in Greten, levine, Pfeiffer, Renold (Editors). Lipid metabolism, obesity and diabetes mellitus. Impact upon atherosclerosis. Ed.G.Thieme, Stuttgart 1974, 29-34.
46.Norum,K.P., Gjone,E. Familial plasma lecithin:cholesterol acyl trasnferase deficiency. Biochemical study of a new inborn error of metabolism. Scad.J.Clin.Lab.Invest. 1967, 20, 235.
47.Norum,P.A., Lakier,J.B., Goldstein,S., Angel,A., Goldberg,R.B., Black,W.D., Noffze,D.K., Dolphin,P.J., Edelglass,J., Bagorad D.D., Alaupovic,P. Familial deficiency of apolipoprotein A-I and C-III and precocious artery disease. N.Engl.J.Med, 1982, 306, 1513-1514.
48.Okazaki,M., Zhang,H., Yoshida,Y., Ichino,K., Nakayama S., Oguchi,K. Correlation between plasma fibrinogen and serum lipids in rats with hyperlipidemia induced by cholesterol free high fructose or high cholesterol diet. J.Nutr.Sci.Vitaminol. 1994, 40, 479-489.
49.Rosenfeld,L. Atheroseclerosis and the cholesterol connexion. Evolution of a clinical application. Clinical Chemistry, 1989, 35, 521-531.
50. Rus,H.G., Niculescu,F., Constantinescu,E., Cristea,A., Vlaicu,R.Immunoelectron microscopic localization of the terminal C5b-9 complement complex in human atherosclerotic fibrous plaque. Atheroseclerosis, 1986, 61, 35-42.
51.Schaffer,E.J., Levy,R.I. Pathogenesis and management of lipoprotein disorders. N.Engl.J.Med.1985,312, 1300-1310.
52.Simons,L.A. Interrelations of lipids and lipoproteins with coronary heart disease mortality in 19 countries. Am.J.Cardiol. 1986, 57, 5G-10G.
53.Stamler,J. Review of primary prevention trials of coronary heart disease. Acta Med.Scand. 1985 suppl.701, 100-128.
54.Steinberg,S., Parthasaray S., Carew,T.E., Khoo,I.C., Witzum,I.L. Beyond cholesterol. Modification of low density lipoprotein that increase atherogenicity. N.Engl.J.Med. 1989, 320, 915-924.
55.Tybjaerg-Hansen,A., Humphries,S.E. Familial defective apolipoprotein B_{100}: a single mutation that causes hypercholesterolemia and premature coronary artery disease. Atherosclerosis. 1992, 96, 91-107.
56.Utermann,C., Iaeschke,M., Menzel,J. Familial hyperlipoproteinemia type III: deficiency of a specific apoliprotein (Apo E-III) in the very low density lipoproteins. FEBS Lett. 1975, 56, 352-355.
57.Vitols,S., Angelin,B., Ericsson,S., Gahrton,G. Uptake of low density lipoproteins by human leukemic cells in vivo: relation to plasma lipoprotein levels and possible relevance for selective chemotherapy. Proc. Natl. Acad. Sci. 1990, 87, 2598-2602.
58.Walker,W.J. Changing US life Style and declining vascular mortality; a retrospetive. Editorial N. Engl. J.Med.1983, 308-649-651.
59.Young,S.G., Hubl,V.T., Chappel,O.A., Schmidt,R.S., Claiborne,R.S., Snyder,S.M., Terdiman,J.F. Familial hypobetalipoproteinemia associated with a mutant species of apolipoprotein B (B46). N. Engl. J.Med.1989, 320, 1064-1610.

Adaos

60.Baldo,A., Sniderman,A.P., St.Luce,S., Avramoglu,R.K., Maslowska,M.,Hoang,B., Monge,J.C., Bell,A., Mulay,S., Cianflone,K. The adipsin acylation stimulating protein system and regulation of intracelular triglyceride synthesis. J.Clin.Invest, 1993, 92, 1543-1547.

61.Cianflone,K., Maslowska,M., Sniderman,D. Impaired response in fibroblasts in patients with hyper-betalipoproteinemia to acylation stimulating protein. J.Clin.Invest, 1990, 85, 722-730.
62.Boden,G. Role of fatty acids in the pathogenesis of insulin resistance in NIDDM. Diabetes, 1997, 45, 3-10.
63.Hotamisligil,G.G., Arner,P., Caro,J.F., Atkinson,R.L., Spiegelman,B.M. Increased adipose expression of TNF-α in human obesity and insulin resistance. J.Clin.Invest. 1995, 95, 2408-2415.
64.Teoman-Uysal,K., Wiesbrock,S.M., Marino,M.W., Hotamisligil, G.S. Protection from obesity-induced insulin resistance in mice lacking TNF-α function. Nature 1997, 389/9: 610-614.
65.Cucuianu,M., Bodizs,G., Duncea, I., Colhon,D. Plasma fibronectin in overweight men and women: correlation with serum triglyceride levels and serum cholinesterase activity. Blood Coagulation and Fibrinolysis, 1996, 7, 779-785.

ÎNTREBĂRI DE CONTROL

1. Stabiliţi corespondenţa între enzimele de mai jos şi procesele metabolice pe care le favorizează:

A. Lipaza hormonodependentă	I Mobilizarea lipidelor din ţesutul adipos
B. Lipoproteinlipaza	II Sinteza colesterolului
C. HMG-CoA reductaza	III Hidroliza trigliceridelor din chilomicroni şi din VLDL
D. Lecithin: cholesterol acil-transferaza (LCAT)	IV Esterificarea colesterolului în celule
E. Acil-CoA-colesterol acil transferaza (ACAT)	V Esterificarea colesterolului în plasmă

2. Stabiliţi corespondenţa dintre apolipoproteinele de mai jos şi semnificaţia lor funcţională:

A. Apo A_1	I Unitate prin care sunt recunoscute resturile de chilomicroni în receptorii hepatici
B. Apo B_{100}	II Cofactor al LCAT
C. Apo B_{48}	III Unitate prin care sunt recunoscute specific particulele de LDL de către receptorii din ficat şi din ţesuturile extrahepatice
D. Apo E	IV Cofactor al lipoproteinlipazei
E. Apo C II	V Întârzie o hidroliză prea rapidă a trigliceridelor şi a captării resturilor de chilomicroni
F. Apo C III	VI Accelerează captarea resturilor de chilomicroni şi a resturilor de VLDL.

3. Creşterea colesterolemiei şi a betalipoproteinelor (LDL) la un caz de hipercolesterolemie familială (tip IIa) se poate datora:
A. unui deficit de lipoproteinlipază
B. unui deficit de apo C III
C. unui deficit de receptori apo B_{100}/apo E
D. unei mutaţii în apo B_{100} (3500 Arg-Gln)
E. toate aceste defecte moleculare
F. nici unul

4. Stabiliți corespondența între anumite lipoproteine "particulare" și semnificația lor:

A. beta-VLDL (beta lată, beta care flotează)	I	lipoproteină bogată în colesterol neesterificat și lecitină care apare în plasma bolnavilor cu colestază (mai ales extrahepatică) și la cei cu deficit familial de LCAT
B. lipoproteina X (LpX)	II	alcătuită din rest VLDL și rest chilomicroni survine; la subiecți cu disbetalipoproteinemie (HLP tip III)
C. lipoproteina (a)	III	migrează cu prebeta dar la ultracentrifugare se comportă ca LDL. De fapt, este o particulă LDL care mai conține o apoproteină care îi conferă o aterogenitate sporită

5. Stabiliți corespondența între defectele moleculare de mai jos și entitățile cărora le corespund:

A. Anomalia apo E_2/E_2	I	Hipercolesterolemie familială (tip II a)
B. Deficit de lipoproteinlipază sau de apo C II	II	Disbetalipoproteinemie (tip III)
C. Deficit de receptori apo B_{100}/apo E sau mutație în apo B_{100} (3500 Arg→Gln)	III	Hiperchilomicronemie (tip I)
D. Accelerarea sintezei de VLDL inclusiv a apo B_{100} (scăderea raportului colesterol/apo B)	IV	Hiperlipidemie familială combinată (mai ales tipurile II b și IV)

6. Care din hormonii de mai jos limitează procesul de mobilizare a lipidelor din țesutul adipos:

A. Adrenalina
B. Noradrenalina
C. Tiroxina
D. Cortizolul
E. Insulina

7. Care din particularitățile biochimice și funcționale de mai jos se întâlnesc cu precădere la un subiect cu obezitate intraabdominală (omentală, de tip android):

A. O susceptibilitatea crescută a receptorilor adrenergici beta 3
B. Un flux crescut de acizi grași liberi spre ficat
C. O secreție accelerată de VLDL
D. Creșterea activității colinesterazei serice și a nivelelor plasmatice de factor XIII, inhibitori ai activării plasminogenului (PAI-1) și fibronectină
E. O rezistență crescută a tesuturilor extrahepatice la insulină și un oarecare grad de hiperinsulinism
F. Toate aceste modificări survin frecvent
G. Nici una nu poate fi legată patogenic de obezitatea androidă.

8. Stabiliţi corespondenţa între preparatele medicamentoase de mai jos şi mecanismul lor de acţiune:

A. Acid nicotinic şi analogi (Olbetam, Acipimox)	I -	Leagă acizii biliari în intestin sub formă neabsorba bilă şi stimulează transformarea colesterolului în acizi biliari
B. Colestiramina şi colestipolul	II -	Inhibă HMG-CoA reductaza şi reduc sinteza de coles terol
C. Fibraţi (Clofibrat,Gemfibrozil)	III -	Reduc secreţia hepatică de VLDL
D. Statine (Lovastatin, Simvastatin, Pravastatin, Zocor, Denan)	IV -	Limitează oxidarea LDL şi favorizează transportul în revers al colesterolului
E. Probucol	V -	Accelerează delipidarea VLDL

9. O scădere a colesterolului sub 50 mg/dl la un bolnav cu manifestări neurologice şi steatoree poate fi atribuită:

A. unui hipotiroidism
B. unui sindrom nefrotic
C. unei abetalipoproteinemii (acantocitoză)
D. toate aceste situaţii
E. nici una

10. Care din compuşii de mai jos poate produce ficat grăsos prin perturbarea sintezei de proteine (şi de apoproteine) şi prin blocarea exportului de VLDL din ficat:

A. Metionina
B. Vitamina B_{12}
C. Acidul aspartic
D. Puromicina

11. Stabiliţi corespondenţa între deficitele genetice ale unor activităţi enzimatice şi consecinţele pe plan clinic şi de laborator:

A. Deficit familial de LCAT	I	Hipertrigliceridemie - hiperchilomicronemie; atacuri recurente de pancreatită
B. Deficit familial de lipoproteinlipază	II	Scăderea esterilor de colesterol, creşterea colesterolului liber şi a lecitinei cu for marea de Lp X, opacifierea corneei, insuficienţă renală, anemie hiporegenerativă, hematii în ţintă
C. Deficit familial de colesterilesterhidrolază	III	Supraîncărcarea ţesuturilor cu esteri de colesterol, calcifierea glandelor suprarenale, evoluţie letală; fără modificări ale lipoproteinelor serice
D. Deficit de Carnitin-palmitil-aciltransferază	IV	Acumularea de trigliceride în musculatură, miopatie; creşterea trigliceridelor serice cu aspect de HLP tip IV

12. Creştera acizilor graşi liberi (AGL) în plasmă poate fi consecinţa unei:

A. Lipolize accelerate în ţesutul adipos
B. Unei reesterificări diminuate
C. Ambele procese
D. Nici unul

13. O placă aterosclerotică "vulnerabilă" poate fi o consecinţă a următoarelor procese:

A. Un proces inflamator mocnit şi prezenţa de limfocite T care produc IFN-γ
B. Unei diminuări a producerii de colagen şi proteoglicani de către celulele musculare netede
C. Unei degradări sporite a matricei conjunctive a capsulei fibroase a plăcii ateromatoase de către unele metaloproteaze produse de macrofage
D. Toate aceste mecanisme sunt implicate în destabilizarea unei plăci ateromatoase
E. Procesele amintite nu sunt relevante pentru patogeneza sindroamelor coronariene instabile.

14. Complicaţiile trombotice ale aterosclerozei se datoresc:

A. Unei fisurări a unei plăci ateromatoase vulnerabile
B. Unui dezechilibru sistemic între factorii procoagulanţi şi mecanismele anticoagulante
C. Unei diminuări a activităţii sistemului fibrinolitic
D. Unei hiperreactivităţi a plăcuţelor sanguine
E. Toate aceste anomalii contribuie
F. Nu există dovezi că formarea de trombi ar interveni în progresiunea aterosclerozei si în determinarea complicaţiilor majore ale acesteia

15. Deficitul de apo C II se soldează cu hipertrigliceridemie deoarece această apoproteină este cofactor al lipoproteinlipazei.

16. Mutaţia 3500 Arg → Gln în molecula de apo B_{100} duce la o acumulare de particule LDL în sânge deoarece hipercolesterolemia familială (tip II a) este aterogenă.
17. Terapia cu probucol poate duce la o regresie a plăcii ateromatoase deoarece acest medicament inhibă lipoproteinlipaza.

18. Obezitatea abdominală (androidă) nu prezintă risc de cardiopatie ischemică şi diabet zaharat deoarece grăsimea intraabdominală este foarte rezistentă la lipoliza indusă de catecolamine.

19. Statinele opresc reabsorbţia acizilor biliari din intestin deoarece au o structură analoagă cu HMG-CoA, substratul HMG-CoA reductazei.

20. Pancreatita acută poate surveni la bolnavii obezi şi hipertrigliceridemici deoarece supragreutatea de tip abdominal se însoţeşte de regulă de o creştere a colinesterazei serice

Cheia la întrebările 15-20:

A. Ambele afirmaţii corecte şi legate cauzal
B. Ambele afirmaţii corecte dar nelegate cauzal
C. Prima afirmaţie corectă, a doua incorectă
D. Prima afirmaţie incorectă, a doua corectă
E. Ambele afirmaţii incorecte.

2. BAZELE FIZIOPATOLOGICE ALE EXPLORĂRII PROTEINELOR PLASMATICE

Proteinele plasmatice alcătuiesc aproximativ 75% din reziduul uscat al plasmei. Graţie combinării metodelor moderne de filtrare în gel, ultracentrifugare, cromatografie şi mai ales cromatografie de afinitate, precum şi prin separarea electroforetică cu precipitare la punctul izoelectric s-a reuşit obţinerea în stare purificată a peste 90 de proteine plasmatice.

Prin injectarea animalelor de experienţă (iepure, cal, capră) cu proteinele purificate s-au obţinut antiseruri care permit dozări imunochimice cu mare sensibilitate, precizie şi specificitate.

Pentru proteinele a căror concentraţie plasmatică depăşeşte 1 mg/l se pot utiliza metode de evaluare relativ simple cum sunt imunodifuziunea radială (Mancini), electroimunodifuziunea (Laurell) sau nefelometria. Sub concentraţia amintită mai sus se va recurge la metode mai sensibile cum sunt cele radioimunologice (RIA) sau imunoenzimatice (ELISA). Detalii asupra acestor metode pot fi găsite în tratate privitoare la tehnicile de laborator şi au fost descrise succint într-un volum editat anterior (1).

Ca urmare a progreselor amintite, separarea electroforetică a proteinelor plasmatice în cinci fracţiuni este astăzi depăşită şi are doar valoare orientativă. Pentru a ilustra cele afirmate mai sus se redau comparativ în tabelele 2.1a şi 2.1b, rezultatele obţinute cu un ser normal la electroforeza pe hârtie sau în gel de agaroză, practicate de rutină, şi multiplicitatea de proteine plsmatice aflate în fiecare din cele cinci fracţiuni electroforetice.

Din cauza limitării spaţiului, se vor prezenta doar proteinele plasmatice cu importanţă funcţională şi relevanţă pentru diagnostic. Proteinele plasmatice cu rol în coagulare şi fibrinoliză au fost prezentate într-o monografie publicată anterior (2) iar cele implicate în procesele imune nu sunt relatate în mod detaliat.

Tabel 2.1.a

Valori procentuale şi în g/dl ale fracţiunilor electroforetice ale proteinelor serice

Fracţiunea	Valori procentuale*	Valori în g/dl
Albumină	52-59	3,5-5,5
α_1 globuline	3-5	0,25-0,35
α_2 globuline	8-10	0,5-0,75
β globuline	12-14	0,8-1,05
γ globuline	16-20	1,1-1,5

* De notat că aceste valori depind de aparatura şi suporturile utilizate (hârtie de filtru, agaroză, acetat de celuloză, amidon)

Principalele proteine plasmatice

Migrarea electroforetică	Proteina	Concentrația (mg/dl)
Prealbumina	Prealbumina	25
Albumina	Albumina	4000
Alfa$_1$	α_1 antitripsina (α_1AT) Apolipoproteina A (Apo A) α_1 glicoproteina acidă (α_1GA) α_1 antichimotripsina (α_1CT) Componenta C9 a sist.compl. Protrombina Factor IX Factor X α_1 microglobulina Transcobalamina	280 200 90 45 8 5 1 1 5 0,3
Inter-alfa	Vitronectina (proteina S a sist.com)	40
Alfa$_2$	α_2 macroglobulina (α_2M) Haptoglobine (HP) α_2 antiplasmina (α_2AP) Antitrombina III (AT III) Cl inhibitor (Cl INH) Kininogenul Ceruloplasmina Proteina de legare a retinolului Proteina de legare a tiroxinei	280 300 6 30 24 10 35 4 2
Beta	Apoliproteina B (Apo B) Transferina Componentul C3 al sist.comple. Componentul C4 al sist.comple. Hemopexina Fibronectina Plasminogenul Factor B al sist.compl. Factor XIII Factor V Factor VIII β_2 microglobulina (b$_2$m)	90 260 80 40 75 33 20 8 3 2 1 0,1
Gamma	IgG IgA IgM IgD IgE Componentul Clq din sist.comple. Proteina C reactivă (CRP)	1200 200 150 sub 3 mg sub 1 mg 15 < 0,5

2.1. GENERALITĂȚI PRIVIND PROTEINELE PLASMATICE

Ca orice proteină din organism, proteinele plasmatice sunt constituite din unul sau mai multe lanțuri peptidice care au în compoziția lor aminoacizi. Indiferent de funcție sau specia de origine, proteinele sunt alcătuite dintr-un set de 20 aminoacizi aranjați în secvențe specifice fiecărei proteine. În funcție de grupul prostetic, proteinele pot fi clasificate în nucleoproteine, fosfoproteine, metaloproteine, glicoproteine și lipoproteine, iar în raport cu conformația structurală se disting proteine fibrilare și globulare. Proteinele plasmatice se reînnoiesc în permanență prezentând o serie de particularități în ceea ce privește metabolismul lor.

2.1.1. METABOLISMUL PROTEINELOR PLASMATICE

Acest aspect implică procese de sinteză a proteinelor plasmatice, distribuirea lor între plasmă și lichidul interstițial, precum și catabolismul acestor proteine. Întrucât între viteza de sinteză și cea de degradare există, în mod normal, o strânsă corelație este de așteptat ca sinteza proteinelor plasmatice să fie supusă unei riguroase reglări.

2.1.1.1. SINTEZA PROTEINELOR PLASMATICE

Ficatul este principala sursă, sintetizând zilnic aproximativ 20 g proteine care asigură presiunea coloidosmotică precum și transportul hormonilor, vitaminelor, mineralelor și a unor metaboliți (de exemplu bilirubina și acizii grași liberi).

Imunoglobulinele sunt sintetizate în plasmocite, iar alte surse de sinteză a proteinelor plasmatice sunt macrofagele care produc unele componente ale sistemului complement și unii inhibitori de proteaze, celulele endoteliale care produc proteine cu rol în coagulare, fibrinoliză și adeziune celulară (3). Așa cu s-a arătat în Capitolul 1, celulele mucoasei intestinale sintetizează unele lipoproteine.

Mecanismul general de sinteză a proteinelor este comun tuturor celulelor și implică interacțiuni multiple de transcripție între ADN genomic și ARN mesager, translația acestuia în ribozomi și determinarea secvenței de aminoacizi. Proteinele sintetizate în ribozomi intră pe calea secretorie în reticulul endoplasmatic. După modificări posttranslaționale (de exemplu glicozilări, plieri ale lanțurilor peptidice, formarea de legături S-S, asamblarea unor subunități) proteinele trec în complexul Golgi, iar apoi în rețeaua trans- Golgi. De aici proteinele sunt dirijate fie spre granule secretorii, fie spre endosomi, fie epre lizozomi. Defecte de pliere sau de asamblare a proteinelor survenite la nivelul reticulului endoplasmatic, fac ca aceste proteine cu defect să nu ajungă în complexul Golgi și în alte organite, ci, fiind deversate în citosol, suferă un proces de degradare proteolitică. Cu alte cuvinte, proteinele cu defect nu trec "controlul de calitate" și se degradează (4).

2.1.1.1.1.Reglarea sintezei de proteine plasmatice. Citokinele.

Acest proces de reglare se exercită atât la nivelul transcripției de mARN din ADN, cât și la nivelul translației. Sinteza de proteine depinde de o serie de factori. Între aceștia sunt de semnalat aportul adecvat de acizi aminați care constituie materialul de construcție, în timp ce factorii toxici, ca de exemplu alcoolul, pot inhiba sinteza. Rolul complex jucat de hormoni este ilustrat prin procesele de inducere sau de represie a enzimelor implicate în metabolismul hidraților de carbon. Asupra acestui aspect se va reveni pe larg în capitolul 3.

Tabel 2.2.

Citokinele care influenţează nivelul proteinelor plasmatice în reacţia de fază acută

Citokina	GM (KDa)	Loc de sinteză	Receptor	Efectul asupra proteinelor plasmatice		Indusă de:
				creşte	scade	
IL-6	26	monocite, limfocite T şi B, endotelii, keratinocite, astrocite	homologie cu familia imunoglobulinelor	α_1CT, HP, Fbg, SAA, CRP	Alb., TR	IL-1, TNF, IFN, PDGF
IL-1	17,5	macrofage, neutrofile, limfocite T şi B, celulele NK	homologie cu familia imunoglobulinelor	α_1CT, α_1AT, HP, SAA, C3, α_1GA	Alb., TR	TNF, LPS
TNF-α	17	macrofage, limfocite T, celule NK	homologie cu receptorul pentru NGF	α_1CT, HP, CP	Alb., TR	IL-1, LPS
IFN-γ	20-25	limfocite T	distribuit ubicuitar unic pt.IFN-γ	α_2M, C1INH	α_1CT, HP, Fbg, Alb.	IL-1, IL-2
TGF β_1	25	plăcuţe, placentă, rinichi, macrofage, lipocite*	53-KDa	α_1CT, α_1AT	Alb, Fbg	Phorbol-esteri, TGF-β

Abreviaţii: α_1AT α_1 antitripsina; α_1CT - α_1 antichimotripsina; α_1GA - α_1 glicoproteina acidă; α_2M - α_2 macroglobulina; Alb - albumina; C1INH - inhibitorul componentei C1 al sistemului complement; C3 - componenta C3 a sistemului complement; CP - ceruloplasmina; CRP - proteina C reactivă; Fbg - fibrinogen; HP - haptoglobină; IFN-γ - interferon γ; IL-1 - interleukina-1; IL-6 - interleukina-6; LPS - lipopolizaharide bacteriene; NGF - factor de creştere a nervului; celule NK - celule natural killer; PDGF - factor de creştere derivat din plăcuţe; SAA - proteina serică A a amiloidului; TR - transferina; TNF -α factor de necroză tumorală.

* Lipocitele sunt celule situate în spaţiile perisinusoidale ale ficatului capabile să elibereze citokine şi să răspundă la citokine.

De notat că pe lângă efectele prezentate în acest tabel şi în text, citokinele mai exercită şi alte efecte cum sunt stimularea sintezei de inhibitor al activării plasminogenului (PAI-1) în ficat şi endotelii, stimularea producţiei şi eliberării de factor von Willebrand din endotelii, expunerea de factor tisular la suprafaţa endoteliilor, expunerea unor molecule de adeziune precum şi internalizarea şi degradarea trombomodulinei din endotelii.

Pierderea de proteine survenită în sindromul nefrotic şi implicit scăderea presiunii coloidosmotice constituie un stimul pentru accelerarea sintezei de proteine şi lipoproteine în ficat, iar produşi de degradare ai unor proteine (de exemplu produşi de degradare ai fibrinogenului sau ai protrombinei) ar stimula sinteza proteinelor din care provin respectivii produşi de degradare.

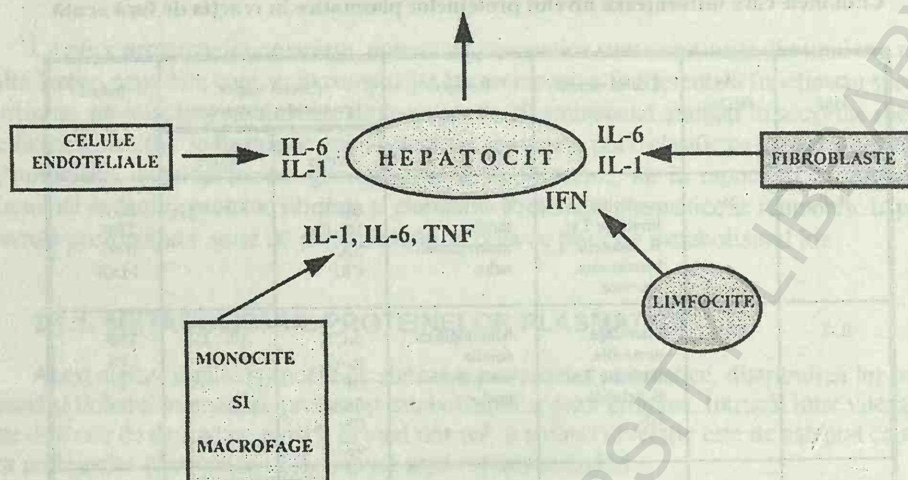


Fig.2.1. Citokine care modulează sinteza proteinelor plasmatice de către hepatocite. Macrofagele, monocitele, fibroblastele şi celulele endoteliale produc citokine care induc sinteza proteinelor de fază acută în ficat.
IL-1 - interleukina 1; IL-6 - interleukina 6; TNF - factorul de necroză tumorală ; IFN - interferonul (produs de limfocitele T).

În ultimii ani s-au acumulat numeroase dovezi referitoare la rolul major jucat de citokine în reglarea sintezei de proteine.

Citokinele sunt proteine asemănătoare hormonilor şi alcătuiesc un grup de mediatori endogeni care asigură o comunicare între celule. Ele sunt produse în timpul dezvoltării şi diferenţierii celulare şi pot fi eliberate din celule ca urmare a leziunilor produse de diverşi factori de mediu.

Prin interacţiunea lor cu receptorii membranari specifici, o serie de citokine induc semnale transmembranare care activează sinteza unor proteine cu rol în apărarea organismului. Principalele citokine cu rol în reglarea nivelelor proteinelor plasmatice sunt interleukina-1 (IL-1), interleukina-6 (IL-6), factorul de necroză tumorală - alfa (TNF-α) şi factorul de transformare a creşterii-beta (TGF-β) (vezi tab. 2.2.).

Sinteza acestor citokine are loc la nivelul macrofagelor, fibroblastelor, limfocitelor şi celulelor endoteliale. De notat că producţia de citokine este reglată şi autocrin, unele citokine eliberate din celulă şi fixate pe propriul receptor putând să-şi autoamplifice sinteza (5,6). Citokinele cu rol în reglarea nivelelor de proteine plasmatice au câteva caractere comune:

- sunt alcătuite dintr-un singur lanţ polipeptidic cu o greutate moleculară între 17 KD şi 30 KD;
- se degradează rapid după declanşarea şi dispariţia semnalelor care le-au suscitat iar această labilitate se corelează cu prezenţa secvenţei de nucleotide TTATTTA în regiunea 3' netranslatată a genelor care le codifică;
- sunt reglate de corticoizi;
- sunt sintetizate şi eliberate ca răspuns la stimuli extracelulari.

De multe ori citokinele menţionate mai sus acţionează împreună având de regulă efecte cumulative. S-a mai stabilit că fiecare genă care codifică sinteza unei proteine de fază acută necesită o anumită combinaţie de citokine pentru a se ajunge la un răspuns adecvat şi susţinut de sinteză a proteinei codificate (7,8).

Pe lângă proprietăţile comune, diversele citokine implicate în reglarea sintezei de proteine plasmatice prezintă o serie de particularităţi care sunt relatate în cele ce urmează, iar o sinteză a acestei probleme este redată în tabelul 2-2.

Interleukina 6 (IL-6), denumită iniţial factor de stimulare hepatică, este reglatorul major al sintezei proteinelor de fază acută la nivelul ficatului (6,8). Are o greutate moleculară de 26 KD, iar lungimea mARN-ului corespunzător este de 1,3 kb. Expresia acestui mARN şi sinteza ulterioară de IL-6 este indusă de IL-1, interferonul-γ (IFN-γ) TNF-α şi de însăşi IL-6. În urma legării de receptorul specific, IL-6 induce sinteza de fibrinogen, haptoglobină, proteina C reactivă (CRP) şi α_1 glicoproteina acidă dar, izolat, nu are efecte asupra sintezei de α_1 antitripsină (α_1 AT). Inducerea proteinelor de fază acută de către IL-6 este potenţată de glucocorticoizi.



Fig.2.2. Efectul IL-1 asupra expresiei genei componentului C3 al sistemului complement. Diferite concentraţii de IL-1 (5,25,50 UI/ml) şi LPS (lipopolizaharid bacterian) 10 μg/ml au fost utilizate pentru stimularea hepatocitelor în cultură timp de 18 ore; mARN a fost purificat prin ultracentrifugare, migrat în gel de agaroză şi colorat cu etidium bromid (partea de jos a figurii) apoi mARN specific componentei C3 a fost identificat cu tehnica "Northern blotting" (transfer de tip Northern) utilizând ADN complementar (cDNA) marcat radioactiv şi expus la film fotografic (partea de sus a figurii). Se vede o creştere a expresiei de mARN de C3 la concentraţii crescute de IL-1 precum şi de LPS faţă de proba de control nestimulată (C). După H.G.Rus şi F.Niculescu (date nepublicate)

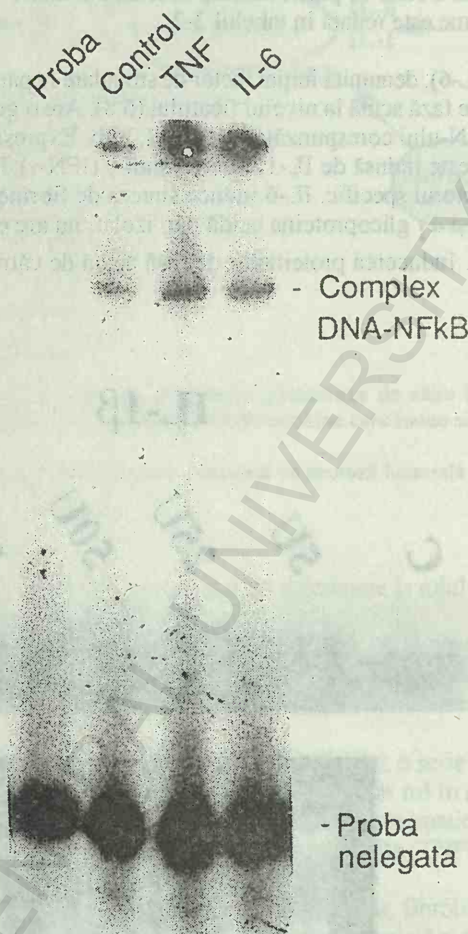


Fig. 2.3. Testarea activării factorilor de transcripție prin tehnica schimbării mobilității electroforetice în gel. În acest experiment s-a urmărit activarea factorului de transcripție NFkB de către TNF și respectiv IL-6. De notat că NFkB (nuclear factor kB) descris în limfocitele B intervine în reglarea expresiei genelor care codifică IL-6, componenta C3 a complementului și a lanțurilor k ale imunoglobulinelor. Proteinele nucleare conținând NFkB din celulele nestimulate (control) și din celule stimulate în prealabil cu TNF sau IL-6 au fost puse în contact cu secvența de DNA specifică pentru NFkB urmărindu-se formarea de complexe. Se observă formarea unor complexe DNA-NFkB cu migrare lentă în gel comparativ cu proba nelegată în complex. Se mai poate observa că TNF-α și IL-6 produc o creștere a acestei legări care "in vivo" este responsabilă de inducerea proteinelor de fază acută. "Proba" de pe primul culoar de migrare conține proteine nucleare care au fost puse în contact cu DNA specific pentru NFkB (F.Niculescu și H.Rus, date nepublicate).

Interleukina-1 (IL-1) acționează de regulă în cooperare cu IL-6 și determină sinteza cu α_1 antitripsină, haptoglobină, ceruloplasmină, componenta C3 a sistemului complement și proteina serică A a amiloidului. S-au descris două tipuri de Il-1 și anume IL-1α și IL-1β, iar macrofagele produc de 10 ori mai mult IL-1β decât IL-1α (5).

Factorul de necroză tumorală (TNF-α), denumit și cașectină, exercită o acțiune citotoxică asupra unor celule tumorale. Sintetizată în macrofage, limfocite T și NK (natural killer) această citokină declanșează reacția de fază acută în mod indirect, determinând o sinteză prealabilă de IL-6.

De notat că IL-6, IL-1 și TNF-α determină concomitent cu creșterea sintezei proteinelor de fază acută, incluzând ceruloplasmina și o reducere a sintezei hepatice de albumină și de transferină (9,10). Această comutare a sintezei hepatice de proteine ar putea explica și scăderea colinesterazei serice și a lipoproteinelor serice în cursul reacției de fază acută.

Factorii de transformare a creșterii β_1 și β_2 (transforming growth factors, TGF) exercită funcții multiple, influențând creșterea și diferențierea celulară. În ceea ce privește reacția de fază acută, aceste citokine exercită efecte deosebit de complexe. Pe de o parte, acționând sinergic cu IL-6 determină sinteza hepatică a reactanților de fază acută, iar pe de altă parte reduce numărul de receptori pentru IL-1, diminuând intensitatea reacțiilor inflamatorii (11).

Interferonii (IFN) sunt proteine cu greutate moleculară mică (vezi tab. 2.2) care exercită importante efecte antivirale, intervenind totodată în modularea reacției de fază acută și în proliferarea celulară. IFN-γ acționează sinergic cu IL-6 crescând nivelul seric de α_2 macroglobulină (α_2M), de inhibitor al componentei C1 a sistemului complement (C 1 INH) și de componenta C 3 a complementului (12).

O citokină cu efect antiinflamator este interleukina 10 (IL-10).

2.1.1.1.2. Factori de transcripție reglatori ai expresiei genelor care codifică proteinele plasmatice

Procesul de transcripție a informației genetice de pe ADN pe un mARN este condiționat de intervenția unor proteine reglatoare denumite factori de transcripție. Prin legarea acestor factori pe anumite domenii din ADN se facilitează sau se reduce capacitatea genei de a se transcrie în mARN reglându-se implicit sinteza de proteine și de enzime. De notat că un singur factor de transcripție poate regla procesul de transcripție la nivelul mai multor gene (13,14).

În cazul reactanților de fază acută, factorii de transcripție intervin atât în expresia genelor pentru citokinele inductoare, cât și în expresia genelor care codifică sinteza proteinelor de fază acută induse de către citokine. De exemplu, gena care codifică IL-6 posedă o regiune specifică NF-IL-6 (Nuclear Factor IL-6) de care se leagă factorul de transcripție notat tot NF-IL-6, modulându-se astfel răspunsul genei la stimulul reprezentat de IL-1. De notat că, la rândul ei, sinteza factorului de transcripție NF-IL-6 este stimulată atât de IL-1 cât și de IL-6, realizându-se astfel o amplificare a genei de IL-6 și implicit accelerarea transcripției de mARN și deci a producției de IL-6.

Testarea activării factorilor de trascripție, respectiv evidențierea formării de complexe între proteinele nucleare și secvența de ADN specifică pentru un anumit factor de transcripție poate fi efectuată prin tehnica "schimbării mobilității electroforetice în gel" (electrophoretic mobility shift assay, EMSA). Un exemplu al acestei tehnici este redat în fig. 2.3.

Modularea sintezei de proteine poate avea loc și posttranscripțional, respectiv la nivelul procesului de translație. De fapt, prin legarea unor proteine specifice la anumite secvențe nucleotidice din mARN se poate ajunge fie la stabilizarea acestuia și la accelerarea translației, fie la oprirea procesului de translație.

Exemple privind modularea sintezei de proteine la nivel translațional afectând producția de feritină și de receptori pentru transferină sunt redate în capitolul 6.

2.1.1.2. DISTRIBUȚIA PROTEINELOR PLASMATICE

O parte a proteinelor plasmatice trece mereu din spațiul vascular în cel extravascular, întorcându-se apoi în circulație pe calea limfaticelor. Trecerea prin pereții capilarelor are loc atât prin joncțiunile interendoteliale cât și printr-un transport activ pinocitar, traversând celulele endoteliale. În ambele cazuri, proteinele plasmatice trebuie însă să traverseze membrana bazală a capilarelor. Este posibil ca unele vezicule de transport prin pinocitoză, să fuzioneze cu lizozomii și să sufere o degradare, o serie de proteine plasmatice fiind astfel catabolizate chiar de către endoteliile capilarelor. Conținutul în proteine a lichidului interstițial și al lichidelor transcelulare (lacrimi, umoare apoasă, secreții digestive) este determinat de mecanismele de transport mai sus menționate. În toate aceste fluide predomină proteinele cu greutate moleculară relativ mai mică, ca urmare a efectului de "cernere" de la nivelul membranei bazale a capilarelor. De fapt, conținutul în proteine al unor astfel de transudate, variază de la țesut la țesut, în funcție de natura joncțiunilor interendoteliale ale capilarelor. Așa de exemplu celulele endoteliale ale capilarelor sinusoide din ficat prezintă fenestrații intercelulare exprimate, iar membrana bazală a acestor capilare are un caracter discontinuu. Ca urmare, proteinele plasmatice vin în contact nemijlocit cu celulele hepatice. Așa se explică, de altfel, felul în care pătrund în plasmă proteinele și particulele lipoproteice cu greutăți moleculare ridicate sintetizate în ficat (de exemplu α_2 macroglobulina și VLDL).

Conținutul în proteine al unui lichid de transudare depinde și de procesele metabolice sau schimburile la care sunt supuse proteinele filtrate. Așa de exemplu, conținutul în proteine al urinei este mult mai scăzut decât cel al ultrafiltratului glomerular, datorită reabsorbției de proteine în tubii proximali ai nefronilor (15).

2.1.1.3. CATABOLISMUL PROTEINELOR PLASMATICE

Așa cum s-a arătat anterior, proteinele cu "defect de fabricație" sunt de regulă degradate chiar în citoplasma celulelor producătoare și nu ajung în plasmă. Proteinele ajunse în plasmă suferă și ele de un proces de degradare, care are loc în majoritatea țesuturilor și constituie o importantă sursă de acizi aminați pentru sinteza de proteine celulare.

Un proces de degradare a proteinelor plasmatice survine încă din cursul traversării endoteliilor capilare. Deși endoteliile sunt relativ sărace în lizozomi, marea lor suprafață (aproximativ 6000 m^2) asigură nu numai schimburile dar reprezintă și un important potențial catabolic.

Proteinele care au trecut prin endotelii în diverse țesuturi pot fi apoi captate în celulele cu care vin în contact, fiind degradate în lizozomi. Este de așteptat ca proteinele cu greutate moleculară mare (factor von Willebrand, α_2 macroglobulină, resturi de chilomicroni, resturi de VLDL) să fie catabolizate mai ales în ficat unde, datorită structurii discontinue a capilarelor sinusoide, proteinele plasmatice vin in contact direct cu hepatocitele.

Un important proces de catabolizare a proteinelor are loc la nivelul rinichilor. Se ştie că zilnic se filtrează la nivel glomerular 2000-4000 mg proteine, dar că în urină apar cel mult 100 mg/24 ore. De fapt proteinele plasmatice care trec în filtratul glomerular în proporţie inversă cu greutatea moleculară, sunt în mare parte captate prin pinocitoză la nivelul tubilor contorţi proximali, iar o proporţie însemnată a acestor proteine este degradată de către enzimele lizozomale din celulele tubulare.

Un alt loc de degradare a proteinelor plasmatice este reprezentat de tractul gastrointestinal, unde proteinele ajunse cu secreţiile digestive sunt supuse proteazelor activate în cursul digestiei.

Este important de arătat că cel puţin în cazul anumitor proteine plasmatice, procesele de recunoaştere, captare, internalizare şi degradare sunt facilitate de existenţa unor receptori specifici. Aşa este cazul lipoproteinelor (vezi capitolul 1) şi al transferinei (vezi capitolul 6). Se poate deci afirma că proteinele plasmatice pot fi captate în diverse ţesuturi fie în grup prin pinocitoză, fie mai selectiv prin intermediul unor receptori specifici pentru anumite proteine. Aceste procese au loc în toate tesuturile dar ficatul, endoteliile capilarelor, rinichii (tubii proximali) şi măduva osoasă joacă un rol mai important.

2.1.2. FUNCŢIILE PROTEINELOR PLASMATICE

În ciuda unei creşteri impresionante a volumului de cunoştinţe în acest domeniu, mai există încă destul de multe proteine plasmatice a căror funcţie biologică este încă neelucidată. În ansamblu, proteinele plasmatice îndeplinesc următoarele funcţii:

a. menţinerea presiunii coloidosmotice a plasmei şi facilitarea schimburilor cu lichidul interstiţial;

b. medierea răspunsului imun prin imunoglobuline şi prin componentele sistemului complement;

c. participarea la sistemele tampon ale sângelui şi la menţinerea echilibrului acidobazic;

d. asigurarea transportului plasmatic dirijat al vitaminelor, hormonilor, metalelor, medicamentelor şi a unor metaboliţi;

e. includ enzime, dintre care unele acţionează în plasmă, iar altele sunt doar "în trecere" prin plasmă, fără a avea un rol activ în sânge (vezi capitolul 3).

f. contribuie la fondul comun de proteine şi implicit de aminoacizi cu rol în procesele de creştere şi separare a ţesuturilor. S-a încercat chiar o clasificare a proteinelor plasmatice, în funcţie de principala lor funcţie (15) distingându-se:

Proteine ale apărării imune, categorie în care se includ imunoglobulinele, proteinele sistemului complement şi proteina C reactivă, aceasta din urmă reprezentând un mecanism primitiv nespecific de activare a complementului.

Proteine asociate inflamaţiei, constituie un grup destul de heterogen de proteine care cresc în cursul inflamaţiei diverselor ţesuturi şi care include fibrinogenul, diverşi inhibitori ai proteazelor, α_1-glicoproteina acidă şi haptoglobinele.

Proteinele de transport asigură transferul unei mari varietăţi de substanţe de la locul de producere spre locul de acţiune sau de catabolizare. Un alt rol al acestor proteine este de a menţine un echilibru între rezervorul de substanţă inactivă (fixată pe proteina de transport) din plasmă şi cantitatea de substanţă liberă şi activă. Totodată proteinele de transport intervin în metabolismul substanţelor transportate, interacţionând cu receptorii celulari şi cu

enzimele. Exemple tipice în acest sens sunt apoproteinele (vezi capitolul 1) cu rol în metabolismul lipidic şi transferina care transportă fierul spre ţesuturile prevăzute cu receptori specifici pentru transferină (vezi capitolul 6).

O serie de hormoni şi de vitamine sunt vehiculate spre celulele ţintă, sub formă fixată pe proteine specifice de transport.

Proteinele semnal joacă un rol de mesageri, în acest grup putând fi incluşi diverşi hormoni cu structură proteică precum şi citokinele.

Proteinele cu rol în hemostază constituie un component important din punct de vedere cantitativ a proteinelor plasmatice. Aceste proteine au fost tratate într-un alt volum (2).

Proteinele derivate din ţesuturi şi proteinele oncofetale se află de regulă în concentraţii extrem de joase. Ele pot fi fragmente ale unor proteine membranare deversate în sânge in cursul reînoirii membranelor sau ca urmare a morţii celulei. Un exemplu tipic în acest sens este β_2-microglobulina. Alte proteine aflate în plasmă sub formă de "urme" sunt proteinele oncofetale produse în tumori ca rezultat al derepresiei genelor care codifică proteinele fetale (ca de exemplu α_1-fetoproteina).

După părerea noastră această clasificare este mai degrabă rigidă şi poate fi utilizată doar cu rezervă. În realitate, diversele proteine incluse într-un anumit grup exercită mai multe funcţii. Este suficient de amintit în acest sens că fibrinogenul, un reactant de fază acută denotând inflamaţia, este totodată un important factor al coagulării.

De asemenea, diverşii inhibitori ai proteazelor inhibă nu numai enzime proteolitice eliberate în cursul inflamţiei (ca de exemplu elastaza), dar şi o serie de factori activaţi ai coagulării şi fibrinolizei. Din acest motiv este necesară o succintă prezentare individualizată a principalelor proteine plasmatice.

2.2. PRINCIPALELE PROTEINE PLASMATICE. BIOCHIMIE ŞI FIZIOPATOLOGIE

Scopul acestui subcapitol este de a prezenta funcţia şi dinamica câtorva proteine plasmatice cu importanţă pentru diagnosticul de laborator.

2.2.1. ALBUMINA

a. **Structura şi funcţia**. Albumina este proteina cu cea mai mare concentraţie din plasmă (între 3.5 şi 4.5 g/dl). Are o greutate moleculară de 69 KD şi este lipsită de hidraţi de carbon. Sinteza hepatică de albumină este relativ constantă (în jur de 20 g/zi) putând fi însă dublată sau chiar triplată la nevoie, respectiv în caz de pierderi. Este prezentă în toate lichidele biologice, iar catabolizarea ei are loc în toate ţesuturile, dar mai ales în ficat, rinichi şi tractul gastrointestinal. Timpul de înjumătăţire în plasmă este de 17-23 zile. Principala funcţie constă în menţinerea presiunii coloidosmotice a plasmei intervenind astfel în reglarea schimburilor între plasmă şi lichidul interstiţial. Albumina intervine şi în transportul acizilor graşi, bilirubinei, a unor hormoni, ioni metalici (Ca, Cu, Zn) precum şi a unor medicamente. Totodată albumina constituie o importantă sursă de aminoacizi esenţiali, utilizată în procesele de regenerare a ţesuturilor.

b. **Genetică şi reglare**. Gena umană care codifică albumina are o lungime de 7 KB şi se află pe cromozomul 4 alături de gena α-fetoproteinei. Scăderea presiunii coloidosmotice

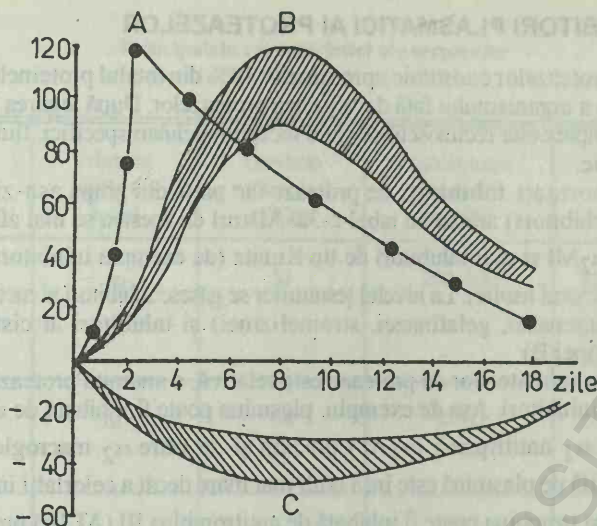


Fig.2.4. Comportarea diferitelor proteine plasmatice în cursul reacţiei de fază acută indusă de citokine.
A - proteina C reactivă (CRP) şi α_1 antichimotripsina (α_1CT).
B - α_1 antitripsina (α_1AT), α_1 glicoproteina acidă (α_1GA) componenta C3 a complementului, fibrinogenul.
C - albumina serică, transferina, colinesteraza serică.

constituie un puternic stimul pentru accelerarea sintezei hepatice de albumină, iar hormonii tiroidieni şi glucocorticoizi stimulează atât sinteza cât şi catabolismul, având drept rezultat accelerarea procesului de reîmprospătare (turn over) a albuminei din plasmă (16).

c. **Implicaţii în patologie**. Hipoalbuminemia survine în stările patologice variate, se instalează prin mecanisme patogenice multiple şi are semnificaţii diferite. În cursul reacţiilor de fază acută mediat de citokine are loc o scădere a sintezei de albumină (vezi tabel 2.2. şi fig. 2.4). Hipoalbuminemia de cauză hepatică apare relativ târziu în cursul evoluţiei bolii, deoarece parenchimul hepatic are o capacitate deosebit de mare de amplificare a sintezei chiar şi în condiţiile unei reduceri a numărului de celule funcţionale. Scăderea aportului de aminoacizi din malnutriţie şi malabsorbţie constituie o altă cauză de reducere a sintezei hepatice de albumină.

Hipoalbuminemia cauzată de pierderi la nivel renal (sindrom nefrotic) sau intestinal (enteropatia exudativă) se instalează atunci când aceste pierderi depăşesc capacitatea de sinteză hepatică compesatorie. Valori ale albuminei serice sub 3 g/dl sunt sugestive pentru un proces patologic, iar valori sub 1,5 g/dl implică un prognostic rezervat.

Analbuminemia este o boală genetică transmisă autosomal recesiv, fiind manifestă doar la homozigoţi. În contrast cu lipsa albuminei la electroforeza proteinelor serice, manifestările clinice sunt destul de discrete constând doar din edeme maleolare, hipotensiune arterială şi uneori steatoree.

Laboratorul evidenţiază o accelerare a VSH şi pozitivarea testelor de disproteinemie. Remarcabilă este creşterea nivelelor altor proteine plasmatice sintetizate în ficat (fibrinogen, colinesterază, factor XIII), fenomen explicabil prin stimularea funcţiei proteosintetice a ficatului de către scăderea presiunii coloidosmotice a plasmei. De notat că în astfel de cazuri timpul de înjumătăţire biologică în plasmă (T/2) al albuminei infuzate este mult prelungit ajungând până la 55 de zile.

2.2.2. INHIBITORI PLASMATICI AI PROTEAZELOR

Inhibitorii proteazelor constituie aproximativ 10% din totalul proteinelor plasmatice şi au rol de protejare a organismului faţă de acţiunea proteazelor. După legarea inhibitorului de protează, acest complex este recunoscut de către receptori celulari specifici, fiind captat şi îndepărtat din circulaţie.

Cei mai importanţi inhibitori de proteaze fac parte din grupa aşa-ziselor **serpine** (serine protease inhibitors) arătate în tabel 2-3a. Alături de acestea se mai află în plasmă α_2 macroglobulina (α_2M) şi unii inhibitori de tip Kunitz (de exemplu inhibitorul coagulării pe calea mediată de factorul tisular). La nivelul ţesuturilor se găsesc inhibitori ai metaloproteinazelor (inhibitori ai colagenazei, gelatinazei, stromelizinei) şi inhibitori ai cisteinproteazelor (inhibitorul catepsinei B).

Specificitatea inhibitorilor de proteaze este relativă, o anumită protează putând fi blocată de mai mulţi inhibitori. Aşa de exemplu, plasmina poate fi inhibată de α_2 antiplasmină (α_2AP) dar şi de α_1 antitripsină (α_1AT) precum şi de către α_2 macroglobulină (α_2M). Afinitatea α_2AP faţă de plasmină este însă mult mai mare decât a celorlalţi inhibitori de proteaze. De asemenea trombina poate fi inhibată de antitrombina III (AT III) precum şi de către α_2M şi α_1AT. Spre deosebire de α_1AT şi α_2M, heparina produce o creştere de peste 1000 de ori a afinităţii ATIII faţă de trombină.

Afinitatea inhibitorilor faţă de o anumită protează se explică pe baza unei anumite secvenţe de aminoacizi din structura lor, corespunzând, de regullă, situsului din molecula de substrat asupra căruia acţionează în mod preferenţial proteaza. S-a arătat astfel că trombina clivează de preferinţă legăturile argininei din structura fibrinei, iar elastaza eliberată din granulocite atacă preferenţial legăturile peptidice ale metioninei. Se ştie de asemenea că AT III conţine în situsul său reactiv arginină iar α_1AT conţine în situsul reactiv aminoacidul metionină.

Ilustrativă în acest sens mutaţia care a dus la substituirea metioninei de către arginină în poziţia 358 a moleculei de α_1AT (α_1AT 358 Met → Arg). Această "variantă Pittsburg" a făcut ca α_1AT să inhibe trombina. Întrucât, aşa cum s-a arătat anterior, α_1AT este un reactant de fază acută, varianta Pittsburg creştea mult în cursul traumatismelor, ducând la o activitate antitrombinică exagerată care în cursul unui accident s-a soldat cu o hemoragie fatală (18). O sinteză a problemelor ridicate de inhibitorii proteazelor este prezentată în tabelele 2-3a şi 2-3b.

2.2.2.1. ALFA-1 ANTITRIPSINA (1AT)

a. **Structura şi funcţia.** α_1 antritripsina (α_1AT) cunoscută şi sub denumirea de α_1 protease inhibitor (α_1PI) este sintetizată mai ales în ficat, iar această sinteză este stimulată de către citokinele eliberate din macrofage (vezi tabel 2.2).

După sinteză şi procesare intracitoplasmatică, α_1AT se eliberează în plasmă realizând o concentraţie de 200-400 mg/dl şi având un timp de înjumătăţire de 6 zile. Este o glicoproteină care include trei lanţuri de carbohidraţi şi 394 aminoacizi, metionina din poziţia 358 reprezentând situsul de atac al proteazelor. S-a putut preciza că după clivarea legăturii peptidice a metioninei 358, proteazele rămân prinse în capcana reprezentată de α_1AT, fiind astfel inactivate şi mai apoi îndepărtate din circulaţie.

Tabel 2.3.a.

Principalele caracteristici ale serpinelor

Proteina	Migrare electroforetică	Greutate moleculară (KDa)	Concentrație plasmatică (mg/dl)	Proteaze inhibate
α_1 antitripsina (α_1AT)	α_1	54	200-400	elastază*, tripsina*, colagenaza*, trombina, plasmina, kalicreina
$\alpha_1$antichimotripsina (α_1CT)	α_1	68	30-60	chimotripsina*, tripsina*, catepsina D, elastaza
$\alpha_2$antiplasmina (α_1AP)	α_2	70	6	plasmina*, trombina, kalicreina, F XIa, F Xa, F IXa
Antitrombina III (ATIII)**	α_2	65	20-40	trombina*, F Xa*, F XIIa, F XIa, F IXa, kalicreina, plasmina, tripsina
Inhibitorul proteinei C (PCI)**	α_2	57	0,3-0,6	proteina C activată*, urokinaza (u-PA) trombina
C1 inhibitor (C1 INH)	α_2	104	15-35	C1 r*, C1 s*, kalicreina, F XIIa, F XIa, plasmina
Inhibitorul activării plasminogenului		50	10-30 (ng/ml)	activatorii plasminogenului - de tip tisular (t-PA) - de tip urinar (u-PA)

* - inhibate cu mare afinitate
** - activitatea inhibitorie potențată de heparină

Tabel 2.3.b

Situsul de reacție al unor serpine. De notat că mutația 358 Met → Arg modifică afinitatea față de proteaza inhibată de predilecție

Serpine	Situs de reacție	Proteaze inhibante de predilecție
α_1 antitripsina	Pro-Met-Ser-Ile	elastaza, tripsina
Antitrombina III	Gly-Arg-Ser-Leu	trombina, factor X a
C1 Inhibitor	Ala-Arg-Thr-Leu	C1s, kalicreina
Mutanta Pittsburg (358 Met → Arg)	Pro-Arg-Ser-Ile	trombina, kalicreină

Având o greutate moleculară relativ mică (54 KD), α_1AT trece destul de uşor în interstițiu şi poate proteja astfel țesuturile față de activitatea distructivă a proteazelor şi mai ales față de elastaza eliberată din neutrofile precum şi față de tripsină. De notat că fumatul şi radicalii superoxid generați de neutrofile pot inactiva α_1AT prin oxidarea situsului reactiv (19).

b. **Genetica**. Locusul PI (protease inhibitor) este extrem de polimorf cu peste 60 de variante genetice, clasificate în funcție de migrarea electroforetică. Varianta cea mai frecventă şi considerată a fi cea normală este notată M (peste 90% din subiecți, urmată de variantele S (3%) şi Z (2%). Nivelele plasmatice de 200-400 mg/dl corespund variantei Pi MM, în timp ce variantele Pi MS, Pi MZ şi PiZZ se asociază cu concentrații plasmatice mai reduse. S-a arătat că varianta S este consecutivă mutației 264 Glu → Val care induce o instabilitate a moleculei de α_1AT ducând la o degradare mai rapidă a acestei molecule. În cazul variantei Z, mutația 342 Glu → Lys face ca 85% din moleculele de α_1AT să rămână blocate în citoplasma hepatocitelor unde se evidențiază sub formă de incluziuni PAS pozitive. Prin urmare, scăderea nivelelor plasmatice de α_1AT se pot datora sintezei unor molecule uşor degradabile (varianta S), deficitul de procesare şi eliberare din hepatocite a moleculelor de α_1AT (varianta Z) sau chiar lipsei de sinteză (varianta Pi nul). Cazurile de homozigoți realizând fenotipurile ZZ şi Pi nul (lipsă totală) se soldează cu deficit de inhibare a proteazelor şi se pot solda cu boli pulmonare severe (20,21,22).

c. **Deficitul de α_1AT şi bolile pulmonare**. Aproximativ 2% din cazurile de emfizem pulmonar din Europa şi America de Nord se asociază cu deficit homozigot de α_1AT (Pi ZZ şi Pi nul). Emfizemul se dezvoltă la astfel de subiecți încă din a doua sau a treia decadă a vieții, mai ales dacă sunt şi fumători.

Se consideră că în cursul unor procese inflamatorii ale căilor respiratorii se ajunge la o eliberare de elastază din neutrofilele acumulate în focarul inflamator. În mod normal aceste proteaze sunt inhibate de către α_1AT exudată în țesutul inflamat, pe când în cazurile cu deficit de α_1AT, elastaza neinhibată va duce la degradarea proteolitică a septelor interalveolare şi implicit la producerea unui emfizem care adeseori devine panlobular. Administrarea de α_1AT purificată din plasmă sau obținută prin inginerie genetică (recombinant α_1AT)

poate preveni sau măcar încetini apariţia bolii la subiecţii cu deficit genetic. O abordare mai radicală constă în transplantul de ficat (20.21).

d. **Deficitul de α_1AT în alte boli.** Aproximativ 10-20% a nou-născuţilor cu Pi ZZ dezvoltă hepatită neonatală. iar la o treime din aceştia boala progresează spre ciroză fatală. Cei care ajung la vârstă adultă dezvoltă probabil mecanisme compensatorii capabile să prevină degradarea proteolitică a tramei de colagen şi elastină a lobulilor hepatici şi oprind astfel regenerarea dezorganizată tipică cirozei. În orice caz. doar o proporţie redusă de adulţi Pi ZZ dezvoltă ciroză. deşi toţi inzivizii cu această anomalie prezintă în hepatocite incluziuni PAS pozitive care. prin metode imunochimice. s-au dovedit a fi acumulări de α_1AT.

Pe de altă parte. 4-5% a subiecţilor adulţi cu Pi ZZ dezvoltă poliartrită reumatoidă neasociată cu alte colagenoze. Fenotipul MZ (heterozigot) pare a fi predispus la boli renale. îndeosebi glomerulonefrită. membrano-proliferativă.

Scăderi cu caracter câştigat ale nivelului plasmatic de α_1AT se întâlnesc doar în mod excepţional şi în mod trecător în condiţiile unui consum exagerat de inhibitori ai proteazelor aşa cum poate surveni în şocul toxico-septic.

Dimpotrivă. creşterea nivelului plasmatic de α_1AT survine frecvent. putând depăşi de 4 ori valoarea normală în cursul reacţiei de fază acută declanşată sub acţiunea citokinelor.

2.2.2.2. ALFA 1 ANTICHIMOTRIPSINA (α_1CT)

Este o glicoproteină având un conţinut de hidraţi de carbon în proporţie de 26%. Pe baza secvenţei de aminoacizi greutatea moleculară ar fi de 55 KD. dar. tocmai datorită conţinutului ridicat de componente glucidice. această greutate ajunge la 68 KD. Concentraţia plasmatică este de 45 mg/dl. fiind extrem de activă în procesul de inhibare a catepsinei G leucocitare şi a chimotripsinei. dar fără a inhiba tripsina şi elastaza. Aflată în concentraţie relativ mai mare la nivelul secreţiilor bronşice. i s-a atribuit un rol în protejarea suprafeţelor mucoase faţă de proteaze. De notat că α_1CT prezintă creşteri importante în cursul reacţiei de fază acută. S-au descris şi cazuri cu deficit genetic. heterozigoţii prezentând valori de 50% din media normalilor. O constatare încă neexplicată se referă la creşterea concentraţiei α_1CT în substanţa cenuşie a bolnavilor cu boala Alzheimer (20).

2.2.2.3. ALFA 2 ANTIPLASMINA (α_2AP)

Această glicoproteină. cu o greutate moleculară de 70 KD şi aflată în plasmă în concentraţie de abia 6 mg/dl. constituie principalul inhibitor al plasminei. Se descriu trei situsuri ale α_2AP cu importanţă funcţională: a) un situs conţinând arginină şi metionină prin care α_2AP captează şi inhibă plasmina: b) un situs conţinând glutamină prin care α_2AP se leagă covalent în reţeaua de fibrină sub acţiunea catalitică a factorului XIII stabilizator al fibrinei: c) un situs prin care α_2AP se leagă reversibil de plasminogen prin intermediul unui radical lizină. Aceste proprietăţi permit ca. spre deosebire de α_1AT şi α_2M. molecula de α_2AP să se încorporeze în cheagul de fibrină şi să antagonizeze plasmina şi la acest nivel.

Deficitul genetic de α_2AP. cunoscut şi sub denumirea de boala Miyasato. se soldează cu sindrom hemoragic. datorită lizei rapide a dopului hemostatic de fibrină. Scăderi cu caracter câştigat ale α_2AP se întâlnesc în insuficienţa hepatică (prin scăderea sintezei) în

coagularea intravasculară diseminată sau după terapia trombolitică (prin exagerarea consumului) precum şi în cursul leucemiei acute promielocitare, când acest inhibitor este degradat de proteazele eliberate din promielocite. Detalii privind α_2AP pot fi găsite în tratate şi monografii privind hemostaza (2).

2.2.2.4. ANTITROMBINA III (AT III)

Având o greutate moleculară de 58 KD şi o concentraţie plasmatică de 25-30 mg/dl, această glicoproteină posedă două situsuri cu importanţă funcţională: legătura peptidică a argininei din poziţia 393 reprezintă zona clivată de trombină şi de factorul Xa şi la nivelul căruia rămân prinse aceste proteaze serinice. Al doilea situs reprezentat de Arg 47, Lys 125 şi Arg 129, asigură fixarea heparinei la molecula de AT III, modificându-i-se conformaţia şi crescându-i afinitatea pentru proteazele pe care le inhibă (în speţă trombina şi factorul Xa).

Deficitul genetic în sinteza de AT III, sau mutaţii în cele două situsuri menţionate se soldează cu o accentuată predispoziţie la tromboză. Scăderi cu caracter câştigat se întâlnesc în insuficienţa hepatică (prin deficit de sinteză), în sindrom nefrotic (prin pierdere urinară) şi în sindroamele de coagulare intravasculară diseminată (prin consum exagerat). Deficitul de proteine din malnutriţie, malabsorbţie şi enteropatia cu pierdere de proteine se soldează de asemenea cu scăderi ale AT III din plasmă.

Pentru detalii se recomandă monografii privind hemostaza (2).

2.2.2.5. ALFA 2 MACROGLOBULINA (α_2 M)

a) **Structura şi funcţia.** α_2M este sintetizată în ficat, macrofage şi endotelii, are o greutate moleculară de 735 KD şi o concentraţie plasmatică de 200-300 mg/dl. Este un inhibitor cu un spectru larg de activitate, inhibând enzime ale coagulării, plasmina, elastaza, colagenaza şi catepsina G.

Spre deosebire de α_1AT, α_1CT, α_2AP şi AT III, acest inhibitor de proteaze nu face parte din clasa serpinelor: α_2M este dotată cu două situsuri alcătuite din câte un tioester între glutamină şi cisteină. După ce, sub acţiunea proteazelor suferă clivarea unui fragment de 80 KD, molecula de α_2M se înfăşoară în jurul proteazelor, interferând cu accesul acestora spre substratele macromoleculare. De notat că proteazele complexate cu α_2M îşi păstrează capacitatea de a hidroliza substratele cu greutate moleculară redusă, aşa cum sunt peptidele cuplate cu p-nitroanilida (cromogeni utilizaţi în laborator pentru studiul coagulării şi fibrinolizei).

Proteazele în complex cu α_2M sunt rapid îndepărtate din circulaţie (T/2 de 10 min) pe când moleculele de α_2M necomplexate cu proteaze au un timp de înjumătăţire în plasmă de 135 ore.

O altă funcţie importantă a α_2M constă în capacitatea de a lega majoritatea citokinelor (mai ales IL-1, IL-6 şi TGF α), acest fenomen având un important rol în modularea activităţii proinflamatorii a citokinelor.

De fapt, α_2M nu face parte din reactanţii de fază acută, iar prin legarea citokinelor, nefixate încă pe receptorii specifici, exercită chiar un efect de limitare a reacţiei de fază acută. Prin fixare la suprafaţa limfocitelor, α_2M exercită şi efecte imunoreglatoare, intervenind în

sinteza imunoglobulinelor. Împreună cu albumina, α_2M are şi rol în transportul insulinei, al zincului şi al altor microelemente.

b. **Implicaţii în patologie.** Deficitul genetic hemozigot este incompatibil cu viaţa, iar deficitul parţial, heterozigot, se însoţeşte de sângerări pasagere determinate de accelerare a fibrinolizei.

Scăderi cu caracter câştigat se întâlnesc rareori şi doar în caz de consum exagerat al inhibitorilor de proteaze, ca de exemplu în pancreatitele acute severe şi în sindroame de coagulare intravasculară diseminată.

Cele mai importante creşteri ale nivelului seric de α_2M se constată în sindromul nefrotic, atât ca urmare a accelerării sintezei cât şi datorită greutăţii moleculare deosebit de ridicate care previne o pierdere urinară. Valori crescute se mai observă în diabetul zaharat, nivelele de α_2M corelându-se cu durata bolii şi cu prezenţa nefro- şi retinopatiei. De notat că prezenţa de α_2M în exudate denotă a alterare importantă a permeabilităţii locale a capilarelor, care permite extravazarea unei proteine cu greutate moleculară deosebit de ridicată (1, 15, 23).

2.2.2.6. ALŢI INHIBITORI AI PROTEAZELOR

Lista inhibitorilor de proteaze nu se limitează la cele arătate mai sus. Aşa de exemplu inhibitorii activării plasminogenului (PAI-1, PAI-2, PAI-3) previn acţiunea activatorilor plasminogenului (t-PA, u-PA). PAI-1 produs mai ales în ficat şi endotelii constituie, alături de α_2AP, principala frână a unei activări excesive a fibrinolizei. PAI-2 provenit mai ales din placentă intervine în încetinirea fibrinolizei în ultimul trimestru al sarcinii, iar PAI-3 inhibă cu predilecţie proteina C activată (2). De notat că PAI-3 este identic cu inhibitorul proteinei C (PCI).

Inhibitorul componentei C_1 a complementului (C_1 INH) limitează nu numai activarea sistemului complement dar şi activitatea kalikreinei a unor factori ai coagulării (f XII a, f XI a), exercitând şi o slabă activitate inhibitorie asupra sistemului fibrinolitic.

Alţi inhibitori ai proteazelor, acţionând mai ales în ţesuturi sunt proteze-nexina, inhibitori ai metaloproteinazelor (colagenaze, gelatinaze). Multitudinea de inhibitori ai proteinazelor, acţionând la nivele şi prin mecanisme diferite, subliniază importanţa lor în prevenirea degradării proteolitice a ţesuturilor precum şi în controlul coagulării, fibrinolizei, a sistemului complement şi a sistemului kininoformator.

2.2.3. ALFA 1 - GLICOPROTEINA ACIDĂ (α_1GA)

Acest reactant de fază acută (denumit în trecut orosomucoid) este sintetizat în ficat, se află în concentraţie de 44-140 mg/dl plasmă, dar poate creşte de peste patru ori în cursul reacţiilor inflamatorii. Are o greutate moleculară de numai 41 KD iar 42% din componentă este dată de hidraţii de carbon.

De fapt, tocmai această componentă favorizează legarea nespecifică a α_1GA la suprafaţa unor bacterii, virusuri sau protozoare. De asemenea, leagă o serie de medicamente ca miorelaxantele (pancuroniu, alcuroniu), medicamente psihotrope (imipramina, clorpromazina) precum şi propranololul şi progesterona (24).

I s-a atribuit şi un rol de modulare a răspunsului imun, temperând activarea neutrofilului (25).

Deşi nu are specificitate pentru o anumită afecţiune, este un important indicator al declanşării şi persistenţei unui proces inflamator, revenirea la normal survenind la aproximativ 2-3 săptămâni de la vindecare.

Scăderi ale α_1GA s-au semnalat în malnutriţie şi ciroză hepatică (deficit de sinteză) şi în sindromul nefrotic (prin pierdere urinară).

2.2.4. PROTEINA C REACTIVĂ (CPR)

a. **Structură şi funcţie**. CRP este alcătuită din cinci subunităţi identice, fiecare de 21 KD, asociate prin legături necovalente. Este sintetizată în ficat, cantităţi mai reduse provenind din limfocite T. Sinteza CRP este indusă de IL-6 efectul inductor fiind potenţat de IL-1.

În absenţa unui proces inflamator, concentraţia serică de CRP este sub 0,1 mg/dl (în orice caz sub 0,5 mg/dl), dar în cursul unui astfel de proces poate creşte de câteva sute de ori şi chiar până la de 3000 de ori, ceea ce o face un indicator extrem de util pentru detectarea şi monitorizarea inflamaţiei. CRP se leagă cu mare afinitate de polizaharidul C al pneumococului (de unde şi denumirea), iar ulterior s-a demonstrat că această proprietate de legare se manifestă şi asupra altor glicoproteide conţinând N-acetil-galactozamino-6-fosfat ca reziduu glucidic terminal, aflate în peretele a numeroase bacterii, a fungilor şi a protozoarelor. Legarea mai sus amintită duce la activarea complementului pe calea clasică (prin intermediul C1q), procesul de activare fiind la fel de eficient ca şi cel realizat de imunoglobulinele G. Se realizează astfel o opsonizare a microorganismelor, facilitându-se îndepărtarea lor de către celulele fagocitare. CRP prezintă o afinitate crescută şi faţă de cromatină, servind ca ligand pentru fosfolipidele şi acizii nucleici eliberaţi prin distrucţia celulelor (26).

Alte efecte ale CRP constau din interacţiunea cu receptorul Fc al monocitelor şi limfocitelor, din inhibarea agregării plachetelor sanguine şi din reducerea eliberării de citokine proinflamatorii. Totodată CRP induce proliferarea limfocitelor T supresoare cu rol in limitarea sintezei de anticorpi. Rezultă deci că CRP este indusă de citokine, dar odată produsă, ea limitează acţiunea acestora şi în ansamblu acţionează ca un modulator al proceselor imune.

b. **Implicaţii în patologie**. Datorită ratei de sinteză deosebit de rapidă, care survine încă de la debutul bolii, CRP reprezintă un indicator important în monitorizarea infecţiilor şi în genere a inflamaţiilor acute şi cronice. De fapt, CRP s-a dovedit utilă în diagnosticul infecţiilor postoperatorii, în urmărirea recidivelor septicemice sau meningitice la nou-născuţi, în diagnosticul infecţiilor la leucemici, precum şi în depistarea unor infecţii intercurente la bolnavii cu lupus eritematos sistemic, care duc de regulă la o exacerbare a bolii.

De notat însă că CRP creşte şi în stări patologice în care nu se decelează o infecţie, ci doar o inflamaţie nespecifică. Valori crescute ale CRP au fost astfel decelate în puseuri ale unui reumatism poliarticular acut, în poliartrita reumatoidă, spondilita anchilozantă, sindrom Reiter, vasculită, sindrom Behcet şi rectocolita hemoragică (27).

2.2.5. HAPTOGLOBINELE

Haptoglobinele sunt o familie de glicoproteine, sintetizate în ficat şi capabile să lege hemoglobina, un mol de haptoglobină putând lega doi moli de hemoglobină, acest complex fiind apoi rapid captat din circulaţie de către macrofage. Se previne astfel o eventuală pierdere de fier pe cale urinară.

Haptoglobinele sunt alcătuite din patru lanțuri peptidice (2 lanțuri α scurte și 2 lanțuri β mai lungi care includ și hidrații de carbon). Concentrația serică este de 300 mg/dl, existând 10 fenotipuri de haptoglobine determinate genetic și având utilitate în medicina judiciară.

Haptoglobinele sunt reactanți de fază acută, crescând în infecții microbiene, arsuri, reacții alergice, cancere și leucemii.

Scăderi s-au evidențiat în insuficiența hepatică (deficit de sinteză) și în anemii hemolitice (prin consum în urma formării de complexe cu hemoglobina și a îndepărtării rapide a acestor complexe). De fapt, timpul de înjumătățire în plasmă (T/2) al haptoglobinelor este de 5 zile, dar sub formă de complex cu hemoglobina acest timp se reduce la 9-30 minute. Determinările de haptoglobină furnizează astfel relații atât asupra reacției de fază acută (creșteri) cât și asupra unui proces de hemoliză (scăderi).

2.2.6. PROTEINELE SERICE ALE AMILOIDULUI

S-au descris două proteine serice care intră în compoziția amiloidului care se depune în țesuturi. Acestea sunt proteina A și proteina P.

Proteina serică A a amiloidului (SAA) este un reactant de fază acută, produs în ficat, având o greutate moleculară de 11-15 KD, dar putând forma complexe de 100-200 KD. În condiții normale, nivelul său plasmatic este extrem de redus, dar, la câteva ore de la declanșarea reacției de fază acută, poate crește de peste 100 de ori, sub acțiunea inductoare a IL-1 și TNF-α (28,29). Pe lângă rolul său de legare a lipopolizaharidelor din peretele bacteriilor și de îndepărtare a acestora din circulație, SA ar stimula producția de colagenază cu rol în remodelarea și repararea țesuturilor (30). Există dovezi că SAA ar interveni în procesele imune inhibând limfocitele T-helper precum și interacțiunea limfocitelor cu macrofagele. Pentru patologie este important faptul că SAA este precursorul proteinei fibrilare A a amiloidului, contribuind implicit la depunerea de amiloid în țesuturi. Un astfel de proces are loc în boala genetică denumită "febra mediteraniană familială" precum și în amiloidozele secundare, care pot surveni la bolnavii cu infecții recurente sau prelungite. Determinările radioimunologice au evidențiat creșteri ale nivelelor serice de SAA în sarcină, în poliartrita reumatoidă, lupusul eritematos sistemic precum și în cancerul pulmonar. Scăderi au fost detectate după chimioterapie, urmate însă de creșteri, în caz de reactivare a procesului tumoral.

Proteina serică P a amiloidului (SAP). Deși are o identitate de 54% cu CRP, în privința structurii primare de aminoacizi, SAP nu este un reactant de fază acută. Este produsă în ficat, are o greutate moleculară de 23 KD și un timp de înjumătățire în plasmă de 9 zile. Concentrația serică este de 2-5 mg/dl, fiind mai crescută cu aproximativ 1 mg la bărbați decât la femei. SAP a putut fi evidențiată în membrana glomerulară și în ariile microfibrilare ale țesutului elastic vascular (31). Pentru patologie este importantă participarea sa la formarea depozitelor de amiloid în toate formele sistemice de amiloidoză, legându-se cu mare afinitate de SAA. După injectarea intravenoasă de ^{125}I-SAP, aceasta se fixează în depozitele de amiloid, ceea ce permite diagnosticul, localizarea și monitorizarea amiloidozei (32).

2.2.7. CONSIDERAȚII ASUPRA PROTEINELOR DE FAZĂ ACUTĂ

Așa cum s-a arătat mai sus, reacția de fază acută declanșată sub acțiunea citokinelor se caracterizează prin creșterea rapidă și importantă a unor variate proteine și glicoproteine. Între acestea sunt de menționat inhibitori ai proteazelor cum sunt α_1AT, α_1CT, PAI-1 și doar în mai

mică măsură AT III. La inhibitorii de proteaze se adaugă CRP, α_1GA, haptoglobina, ceruloplasmina şi SAA. De notat că, pe lângă proprietatea de a semnala reacţia de fază acută, aceste proteine intervin în modularea proceselor imune, ceruloplasmina este o oxidoreductază, haptoglobinele intervin în fixarea hemoglobinei, iar α_1GA contribuie la legarea şi transportul unor medicamente. Cele relatate denotă, încă o dată, dificultăţile întâmpinate de încercările de clasificare a proteinelor plasmatice pe baza funcţiilor pe care le îndeplinesc.

2.2.8. TRANSFERINA

a. **Structură şi funcţie**. Este o glicoproteină, cunoscută şi sub denumirea de siderofilină, dotată cu capacitatea de a lega fierul şi de a-l transporta spre organele prevăzute cu receptori pentru transferină, asigurându-se astfel aportul de fier necesar sintezei hemului şi a enzimelor care conţin fier. Are o greutate moleculară de 86 KD şi o concentraţie plasmatică de 200-400 mg/dl. Este alcătuită dintr-un singur lanţ peptidic şi două lanţuri identice de hidraţi de carbon dotate cu situsuri de fixare pentru atomii de fier. În cazul adultului sănătos, doar aproximativ o treime din transferină este saturată cu fier, transportând însă 99% din fierul seric. Acest transport se face atât de la nivel intestinal spre organele în care are loc utilizarea sau stocarea fierului, cât şi între organele care depozitează fierul şi cele care îl utilizează pentru sinteza hemului (transportul în ambele sensuri).

Pe lângă această principală funcţie, transferina mai are şi alte roluri cum ar fi cel de protejare faţă de infecţii şi faţă proliferările tumorale, exercitând o competiţie pentru fier cu microorganismele şi cu celulele tumorale. Pe de altă parte, în cazul celulelor prevăzute cu receptori specifici (de ex. elementele seriei roşii din măduvă), transferina reprezintă un factor de creştere (33).

De fapt, complexul tranferină-Fe intră în celulă prin intermediul unui receptor specific care-i mediază endocitoza. Desprinderea fierului de pe transferină se face la un pH redus, în vezicule endocitate, reducându-se astfel posibilitatea eliberării nespecifice a fierului la suprafaţa celulelor. După eliberarea fierului, transferina este recirculată, împreună cu receptorul ei spre suprafaţa celulei şi se reîntoarce în plasmă (34). Date privind mecanismele de reglare a producţiei de transferină şi de receptori pentru transferină sunt prezentate în capitolul 6.

b. **Implicaţii în patologie**. Atransferinemia congenitală se prezintă ca o anemie hipocromă, microcitară şi caracterizată prin nivele extrem de scăzute ale transferinei serice (0-40 mg/dl). Este rezistentă la terapia cu fier, singura posibilitate de remediere a deficienţei fiind perfuziile de plasmă sau de transferină purificată. Au fost descrise şi cazuri cu anticorpi (clasa IgG) antitransferină care blochează transportul şi captarea fierului în celule. În astfel de situaţii transferina serică poate fi mult crescută, dar capacitatea sa de a fixa fierul este redusă astfel încât fierul liber din circulaţie se află în concentraţie sporită, depunându-se în ţesuturi şi generând tabloul clinic al unei hemocromatoze. Experienţe efectuate pe animale de laborator "in vivo" sugerează şi posibilitatea blocării intrării în celule a complexului transferină-fier ca urmare a producerii de anticorpi faţă de receptorii celulari ai transferinei (34).

Variaţii suferite de nivele plasmatice de transferină, a capacităţii totale de fixare a fierului, precum şi a nivelelor de receptori pentru tranferină sunt prezentate în capitolul 6, în context cu alţi parametri ai economiei fierului din organism.

2.2.9. FIBRONECTINA

Fibronectina (FN) este o glicoproteină cu greutate moleculară de 440 KD, făcând parte din grupul "proteinelor de adeziune". Astfel de proteine posedă în structura lor tripeptidul Arg-Gly-Asp (RGD), prin intermediul căruia se leagă la anumiţi receptori celulari, denumiţi integrine, asigurându-se astfel adeziunea celulară. De altfel chiar denumirea de fibronectină se referă la funcţie ei de legare (conectare) a diferitelor structuri tisulare şi provine de la termenii latini "fibra" şi "nectere". FN se găseşte în plasmă sub formă solubilă (pFN) iar în matricea de ţesut conjunctiv, membranele bazale şi glicocalixul celular se află sub forma unei aşa-zise fibronectine celulare (cFN) insolubilă. De notat că cFN are o greutate moleculară mai ridicată, datorită inserţiei unor domenii adiţionale. Transformarea FN solubile în FN fibrilară poate fi indusă de agenţi polianionici ca heparina, spermidina şi heparansulfatul, cu care cooperează în asigurarea interacţiunii dintre celule şi matrice şi în direcţionarea fibrilogenezei colagenului, contribuind astfel la formarea ţesutului conjunctiv şi la repararea ţesuturilor (35). Nivelul plasmatic de FN este de 25-40 mg/dl, iar cu ajutorul anticorpilor monoclonali s-au putut efectua dozări diferenţiate de pFN şi de cFN. Doar cantităţi minime de cFN ajung în plasmă în unele boli vasculare, dar chiar şi în astfel de cazuri concentraţile de cFN ajung la abia 0,1-0,2 mg/dl. Prin urmare, se poate afirma că în mod practic nivelul plasmatic de FN, determinat de rutină cu anticorpi policlonali, este alcătuit aproape exclusiv din pFN (36). Date experimentale, obţinute prin perfuzia ficatului izolat de şobolan, demonstrează că principalul sediu de sinteză a pFN este ficatul, producţia de FN fiind stimulată dacă la lichidul de perfuzie se adaugă insulină şi cortizon. Pe lângă rolul pFN de posibil precursor al cFN, multiplele domenii ale acestei glicoproteine îi conferă posibilitatea de opsonizare a bacteriilor şi de acţiune cu detritusuri celulare facilitând îndepărtarea acestora.

De notat că, sub acţiunea factorului XIII stabilizator al fibrinei, fibrina se leagă de fibronectină iar aceasta stabileşte legături covalente cu colagenul, asigurându-se astfel organizarea fibroasă a depozitelor de fibrină. Detalii asupra rolului fibronectinei în hemostază şi în prepararea "cleiurilor de fibrină" sunt prezentate într-o monografie precedentă (2).

b. **Implicaţii în patologie**. Scăderea nivelului plasmatic de FN, ca urmare a unui deficit de sinteză se întâlneşte în cursul insuficienţei hepatice la bolnavii cu ciroză hepatică decompensată parenchimatos şi la bolnavii cu leucemie acută limfoblastică trataţi cu L-asparaginază. Se mai constată scăderi ale FN şi după intervenţii chirurgicale majore, traumatisme multiple şi stări septice, mai ales atunci când se asociază fenomene de coagulare intravasculară diseminată.

Creşteri importante ale nivelului plasmatic de FN s-au semnalat în sindromul nefrotic şi în obezitatea de tip android (abdominal), fiind mai probabil consecutive unei stimulări a sintezei hepatice de proteine şi asociindu-se cu hipertrigliceridemia (37,38,39). De notat că în hepatitele cronice şi în cirozele hepatice compensate, dar prezentând semne de progresiune, nivele plasmatice de FN au fost crescute (37). De altfel, procesele inflamatorii evoluează cu nivele crescute de FN, a cărei sinteză este probabil stimulată de o anumită constelaţie de citokine proinflamatorii.

A fost descris şi un deficit genetic de FN, subiecţii afectaţi prezentând o întârziere în vindecarea plăgilor şi tendinţa la formarea de cheloid în exces.

2.2.10. VITRONECTINA

Vitronectina (VN) este o glicoproteină cu greutate moleculară de 75 KD şi o concentraţie serică de 30-50 mg/dl. Ca şi FN, VN conţine în structura ei tripeptidul Arg-Gly-Asp (RGD)

cu rol în adeziunea celulară, precum şi un domeniu bazic care leagă heparina. Acest domeniu este implicat şi în activarea complexului terminal al sistemului complement precum şi în inhibarea activităţii litice a perforinei produse de limfocitele T citotoxice (40). La aceste efecte se mai adaugă şi proprietatea VN de a forma complexe cu inhibitorul activării plasminogenului (PAI-1) fără a diminua capacitatea acestui inhibitor de proteaze în procesul de blocare a t-PA şi u-PA.

Nivelul seric al VN se corelează pozitiv cu activitatea colinesterazei şi cu factorul X al coagulării sugerând atât rolul ficatului în sinteza acestei glicoproteine, cât şi posibilitatea creşterii sale la bolnavii cu supragreutate şi hipetrigliceridemie. Există, de altfel, dovezi că VN se acumulează în peretele arterial afectat de ateroscleroză (41).

2.2.11. BETA-2 MICROGLOBULINA (β_2m)

a) **Structură şi funcţie.** β_2m are o greutate moleculară de abia 11,8 KD şi o concentraţie serică sub 0,3 mg/dl. Este alcătuită dintr-un singur lanţ polipeptidic şi este secretată la suprafaţa tuturor celulelor nucleate, reprezentând lanţul uşor al complexului major de histocompatibilitate clasa I (HLA-A, B, C). Procesul de reînprospătare (turnover) al acestei proteine la suprafaţa membranelor celulare este principala sursă de β_2m din ser şi alte lichide biologice. Având o greutate moleculară relativ mică, β_2m trece în filtratul glomerular, fiind însă în mare măsură reabsorbită şi metabolizată în celulele tubulare renale, astfel încât eliminarea urinară este de abia 0,12-0,40 mg/24 ore.

b. **Implicaţii în patologie.** Nivelul seric de β_2m creşte în caz de scădere a filtrării glomerulare (glomerulonefrite, nefropatie diabetică). De notat că hemodializa aplicată bolnavilor cu insuficienţă renală cronică nu poate preveni acumulările de β_2m în sânge, iar depunerea acestei proteine în ţesuturi duce la formarea fibrilelor de amiloid. Sediul preferat de depozitare este ţesutul sinovial şi mai ales cel din tunelul carpian, ajungându-se la compresiunea nervului radial (sindrom de tunel carpian).

Pe de altă parte, creşterea eliminărilor urinare de β_2m atrage atenţia asupra perturbării funcţiei tubilor renali şi contribuie la depistarea precoce a intoxicaţiilor cronice cu metale grele, a nefropatiei endemice balcanice şi a nefropatiilor interstiţiale medicamentoase.

Creşteri importante ale β_2m atât în ser cât şi în urină survin în leucemiile limfoide cronice, boala Hodgkin, mielomul multiplu şi macroglobulinemia Waldenström, aceste creşteri fiind corelabile cu evoluţia bolii, respectiv cu masa celulelor proliferate şi a celor pe cale de degradare (42,45).

2.2.12. SISTEMUL COMPLEMENT

a. **Structură şi funcţie.** Proteinele sistemului complement, dotate cu activităţi enzimatice, circulă în plasmă sub formă de zimogeni, activarea lor efectuându-se în lanţ în mod succesiv printr-un proces de proteoliză limitată. Acest sistem cuprinde 20 de componente proteice care includ pe lângă zimogeni (proenzime) şi inhibitori enzimatici cu rol reglator în cascada activării.

Sistemul complement intervine în liza celulelor, în chemotaxie, opsonizare, imunoaderenţă, fagocitoză şi anafilaxie (46).

Activarea sistemului complement decurge în trei stadii succesive:
- Generarea C3 convertazei ducând la clivarea componentei C3.
- Generarea C5 convertazei şi clivarea consecutivă a componentei C5.
- Asamblarea căii terminale de atac a membranei.

Generarea C3 convertazei are loc pe două căi distincte, calea clasică şi calea alternativă, implicând modalităţi diferite de acţiune şi componente proteice distincte.

Activarea căii clasice se face prin complexe imune sau agregate de imunoglobuline conţinând IgG, IgA sau IgM. În urma activării, componenta Clq se leagă de regiunea CH2 a imunoglobulinelor şi activează componentele Clr şi Cls, în prezenţa ionilor de calciu. Acestea, la rândul lor activează molecula de C4 clivându-o în C4a şi C4b (fig. 2.5). C4b se leagă hidrofob de membrana celulară din vecinătatea complexului antigen-anticorp, care a iniţiat activarea şi apoi interacţionează cu molecula de C2, alcătuind complexul C4bC2a denumit convertaza C3 a căii clasice.

Activarea căii alternative este indusă de polizaharidele din pereţii celulelor, de endotoxinele bacteriilor Gram-negative, IgA, factorul nefritic şi unii paraziţi. Toţi aceşti agenţi activatori posedă o aşa-numită "suprafaţă activatoare", care permite formarea convertazei C3 şi protejarea ei de efectul inhibitor al factorilor I şi H. C3b format în urma activării C3 se leagă de suprafaţa activatoare şi formează un complex cu factorul B, iar complexul C3bB se transformă în C3bBb sub acţiunea enzimatică a factorului D. Activitatea enzimatică a complexului C3bBb este stabilizată de către properdină (P) amplificându-şi capacitatea de a activa noi molecule de C3.

În urma acţiunii celor două convertaze formate pe calea clasică şi alternativă, respectiv C4bC2a şi C3bBb are loc clivarea C3 cu eliberarea fragmentului C3a, cu rol în chemotaxie şi anafilaxie, şi a fragmentului C3b cu rol activ.

Generarea C5 convertazei are loc în urma asocierii fragmentului C3b la complexul C3 convertazei (C4bC2a) ajungându-se astfel la complexul C4bC2aC3b (pentru calea clasică) şi C3bBb (pentru calea alternativă). Aceste complexe cu rol de C5 convertază clivează enzimatic componentul C5 rezultând C5a cu rol chemotactic şi C5b, care se fixează la suprafaţa membranei celulare.

Asamblarea căii terminale se face prin reacţia stoichiometrică a C5b cu componentele C6 şi C7 formându-se complexul C5b-7 ancorat în membrana plasmatică a celulei. Legarea la acest complex a unei molecule de C8 şi a mai multor molecule de C9 generează complexul C5b-9, care, în urma unor modificări conformaţionale ale proteinelor din componenta lui, se poate insera complet în membrana celulară, formând un canal permeabil pentru apă şi ioni. Tot ca urmare a modificărilor conformaţionale mai sus amintite, componentele complexului C5b-9 expun aşa-numiţii "determinanţi neoantigenici". De notat că asamblarea complexului C5b-9 poate avea loc şi în faza fluidă (în absenţa membranei) asociindu-se cu clusterină şi cu vitronectina (denumită şi proteina S a complementului). Se formează astfel complexe de tipul SC5b-9 care sunt citolitic inactive (46-48).

b. **Implicaţii în patologie.** Determinarea nivelului seric al diferitelor componente, precum şi a activităţii globale a sistemului complement prin testul CH50 (complement hemolitic total 50%) sunt de o reală utilitate în diagnosticul unor boli. Concentraţii crescute se întâlnesc în procese inflamatorii acute şi în genere în cursul reacţiei de fază acută (infecţii, postoperator, infarct miocardic) precum şi în puseuri evolutive ale unor boli cu inflamaţie cronică (spondilită anchilozantă, sclerodermie, poliartrită reumatoidă).

Scăderea concentraţiilor survine mai des în boli evoluând cu creşterea complexelor imune circulante (CIC) care, având un potenţial de activare a complementului, duc la consumul unor componente ale acestui sistem. Cele mai ilustrative exemplu sunt lupusul eritematos sistemic

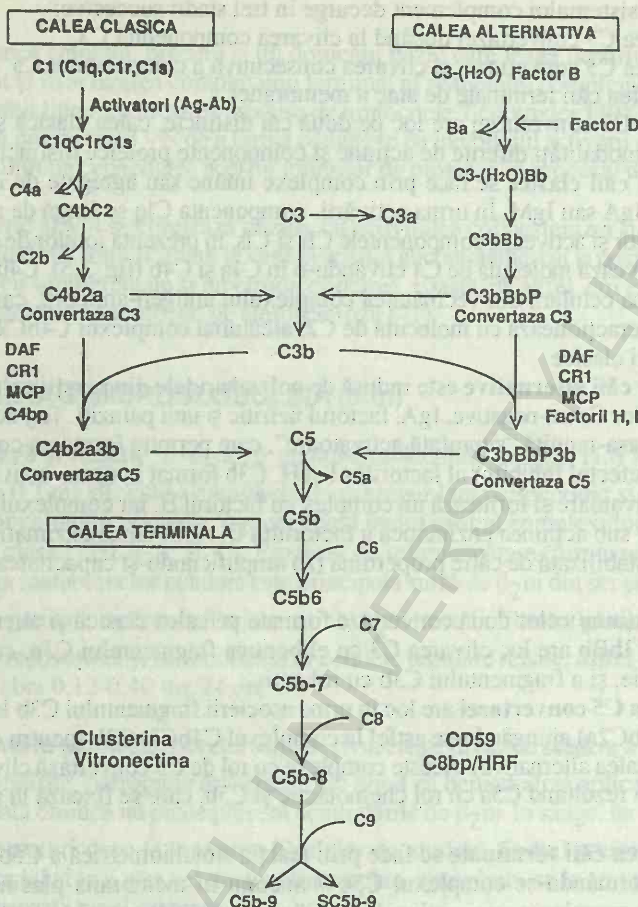


Fig.2.5. Reprezentare schematică a activării sistemului complement.

(LES), glomerulonefrite cu patogeneză imună, diverse vasculite, endocarditele bacteriene, crioglobulinemiile şi rejetul acut de grefă. Se consideră că în LES, prototipul bolilor mediate prin CIC, aceste complexe circulante sau depuse în ţesuturi activează sistemul complement care mediază consecutiv leziunile tisulare şi întreţine un proces inflamator cronic. Datele de laborator arată că, de fapt, LES se asociază cu o creştere a CIC şi cu o scădere a nivelelor serice de C1, C2, C3, C4. O dovadă a activării sistemului complement o constituie şi creşterea nivelului seric de SC5b-9, precum şi evidenţierea prin imunofluorescenţă a acestor componente ale sistemului complement asociate cu imunoglobuline şi depuse la nivelul glomerulilor în glomerulonefrita din LES activ (vezi fig. 2.6). Scăderi ale complementemiei, cauzate de activarea căii clasice de către CIC survin şi în glomerulonefrita poststreptococică, în cea din endocarditele infecţioase precum şi în crioglobulinemia esenţială. Pe de altă parte, în majoritatea cazurilor de glomerulonefrite cronice, componentele sistemului complement sunt prezente în glomeruli, deşi acest fenomen nu se asociază frecvent cu scăderea lor în ser.

Un caz particular de glomerulonefrită hipocomplementemică este reprezentat de glomerulonefrita membranoproliferativă, în care activarea complementului decurge pe calea alterna-

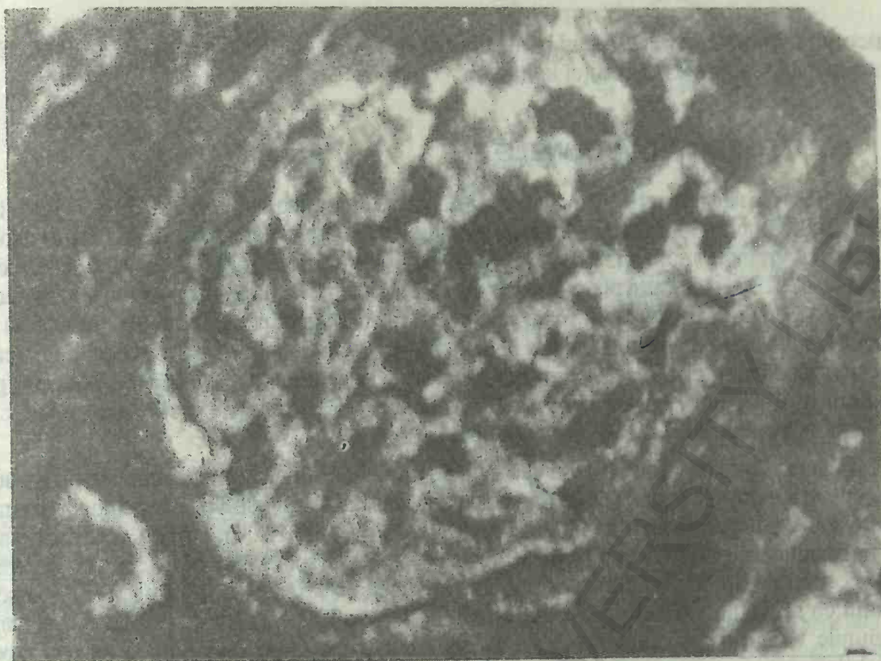


Fig. 2.6. Depozite imunofluorescente de C5b-9 la nivel glomerular, tubular şi arteriolar în puncţia biopsie renală, provenită de la un caz cu lupus eritematos sistemic (imunofluorescenţă indirectă x 250). După F.Niculescu şi H.Rus (date nepublicate).

tivă prin intermediul factorului nefritic. Aceasta este un autoanticorp din clasa IgG. care legându-se de complexul C3bBb îl protejează faţă de acţiunea inhibitorilor. menţinând astfel calea alternativă într-o continuă activare.

Activarea complementului printr-un mecanism similar celui din LES se observă în cursul hemodializei. în vasculitele sistemice necrotizante. periarterita nodoasă. purpura Henoch-Schönlein şi crioglobulinemiile mixte. În toate aceste afecţiuni depunerea de complexe imune în peretele vascular determină leziuni tisulare şi atragerea de limfocite şi monocite. S-a reuşit evidenţierea unor depozite de C5b-9 atât în peretele vascular cu leziuni aterosclerotice cât şi în ariile miocardice infarctate. sugerând rolul patogen al activării complementului (48-52).

Valori scăzute ale unor componente ale sistemului complement se pot datora şi unor deficite cu caracter genetic. Cel mai frecvent deficit este cel care afectează parţial sau total sinteza de C1 inhibitor(C1INH). având drept urmare o activare în exces a căii clasice precum şi a sistemului kininoformator. Acest deficit se soldează pe plan clinic cu aşa-zisul edem angioneurotic caracterizat prin edeme spontane la nivelul feţei şi pleoapelor. cu debut brusc şi în legătură cu infecţii. traumatisme sau efort fizic. Laboratorul evidenţiază. în cursul unor astfel de pusee acute. o scădere a componentelor. C3 şi C4. pe fondul unei diminuări exprimate a activităţii C1INH. Deficitul homozigot de C2 şi C4 evoluează cu infecţii recurente. glomerulonefrite cronice şi cu manifestări sugerând un LES care contrastează însă cu lipsa

anticorpilor antinucleari. Deficitul homozigot al componentelor căii terminale se soldează cu o pronunțată scădere a rezistenței la infecții.

2.2.13. IMUNOGLOBULINELE

a. **Structură și funcție**. S-au descris cinci clase de imunoglobuline: IgG, IgA, IgM, IgD și IgE. Toate imunoglobulinele sunt alcătuite din patru lanțuri peptidice, două lanțuri ușoare L (light) cu greutate moleculară de 22 KD și două lanțuri grele H (heavy) cu greutate moleculară de 52 KD legate între ele prin punți disulfidice (fig. 2.7). Lanțurile ușoare sunt de două tipuri: k și λ, fiind prezente în toate clasele de imunoglobuline; fiecare moleculă de imunoglobulină posedă fie două lanțuri k, fie două lanțuri λ. Lanțurile grele sunt de cinci tipuri, corespunzând celor cinci clase, de imunoglobuline și sunt desemnate cu literele γ pentru IgG, α pentru IgA, μ pentru IgM, δ pentru IgD și ε pentru IgE. Formulele moleculare pot deci fi $\gamma_2 k_2$ sau $\gamma_2\lambda_2$ pentru IgG, $\alpha_2 k_2$ sau $\alpha_2\lambda_2$ pentru IgA etc.

Papaina clivează proteolitic moleculele de imunoglobuline în trei fragmente cu greutăți moleculare aproximativ egale; două fragmente posedă situsuri de combinare cu antigenul (fragmente Fab "antigen binding"), iar al treilea fragment, Fc, are rol în interacțiunea imunoglobulinei cu sistemul complement precum și cu celule active imunologic, dotate cu receptori specifici de tip Fc. Atât lanțurile grele cât și cele ușoare din fragmentele Fab posedă regiuni cu secvențe variabile (V) și constante (C) ale aminoacizilor din structură primară. Regiunile V conțin domenii cu un grad deosebit de variabilitate, denumite domenii "hipervariabile" care sunt responsabile de specificitatea legării de un anumit antigen și constituie baza marei diversități a anticorpilor. Fiecare lanț de imunoglobulină este codificat de o singură genă distinctă, este sintetizat separat, iar întreaga moleculă de imunoglobulină este asamblată în citoplasmă după translația fiecărei componente. Grație unui mecanism de "rearanjare genetică" se asigură cooperarea mai multor locusuri genetice în sinteza unei regiuni variabile.

Imunoglobulinele din circulație sunt sintetizate de către plasmocitele din măduva hematoformatoare (vezi fig.2.8). Timpul de înjumătățire în circulație diferă între diversele clase

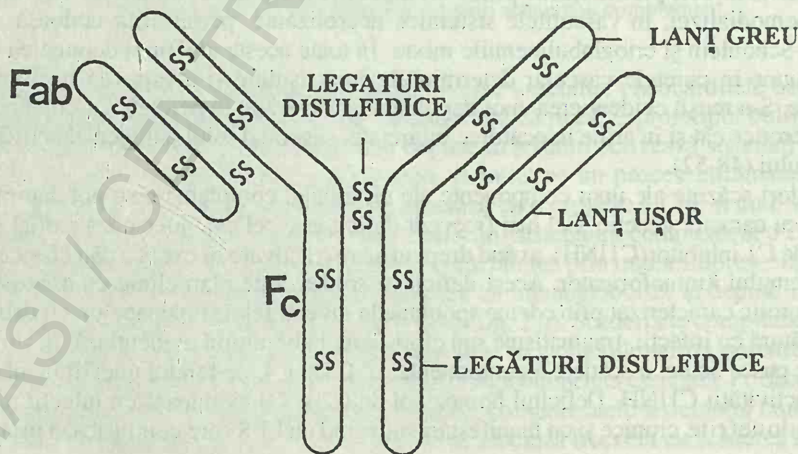


Fig.2.7. Reprezentare schematică a structurii unui monomer din molecula de imunoglobulină.

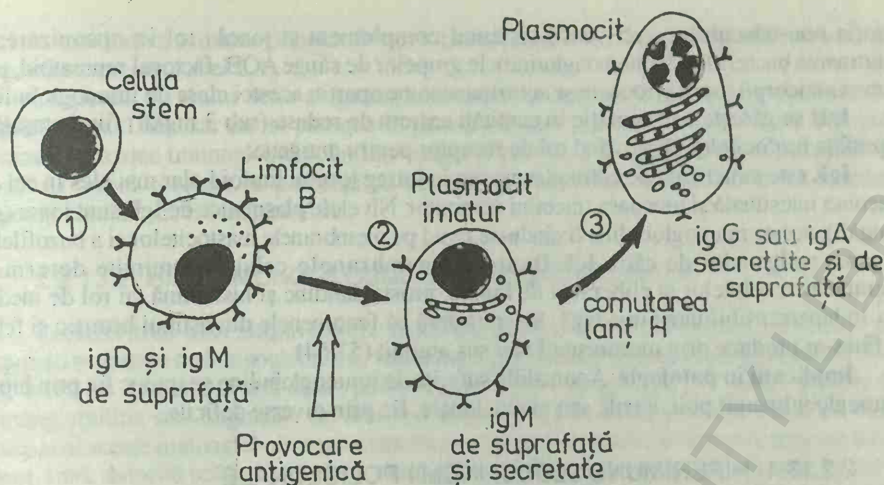


Fig.2.8. Maturarea limfocitului B ca urmare a provocării antigenice
1) limfocitul B matur, nestimulat sintetizează IgM și IgD de suprafață având în regiunea variabilă a moleculei secvențe specifice pentru un anumit antigen pentru care acționează ca receptori; 2) în cursul diferențierii spre plasmocit imatur se oprește sinteza lanțului H al IgD și crește producerea de IgM secretate, având aceiași specificitate a regiunii variabile ca și imunoglobulinele de suprafață; 3) ulterior în cursul maturației, sinteza regiunii constante a lanțului H se comută de la IgM fie spre IgG, fie spre IgA, însă cu transcrierea aceleiași gene pentru regiunea variabilă. O bună parte a imunoglobulinelor este secretată.

de imunoglobuline, fiind în medie de 23 zile pentru IgG, 6 zile pentru IgA, 5 zile pentru IgM și doar 3 zile pentru IgD și IgE. Diferitele clase de imunoglobuline diferă și în privința concentrației lor plasmatice și a semnificației funcționale.

IgG cu o greutate moleculară medie de 150 KD se află în plasmă într-o concentrație relativ mai mare decât cea a altor imunoglobuline, fiind în medie de 150 UI/ml (1200 mg/dl) cu variații fiziologice între 100 și 200 UI/ml. Exercită funcții de blocare a antigenelor specifice și de opsonizare, având și efecte antitoxice și antivirale; IgG constituie anticorpii predominanți ai răspunsului imun secundar, activează sistemul complementar și pot trece prin placentă. S-au descris patru subclase (IgG 1-4) care diferă în funcție de structura primară a lanțurilor H.

IgA reprezintă doar 10-15% din totalul imunoglobulinelor serice, având o concentrație medie de 145 UI/ml (200 mg/dl). În plasmă au o greutate moleculară de 160 KD, dar trecând în secreții (lacrimale, salivare, gastrointestinale, lapte) formează un polimer alcătuit din două molecule de IgA, o moleculă de legătură zisă lanțul J (de la junction - legătură) și o glicoproteină denumită proteina (piesa) secretorie. Se disting două subclase de IgA: IgA_1 prevalente în ser și IgA_2 aflate mai ales în secreții și dotate cu activitate antivirală, prevenind legarea virusurilor de celulele tractelor respirator și gastrointestinal. De notat că IgA sunt rezistente la acțiunea proteolitică a sucurilor intestinale, iar prezența lor în colostru protejează nou-născutul față de infecțiile gastrointestinale.

IgM are o concentrație medie de 180 UI/ml (144 mg/dl) și circulă sub formă de pentameri $(\mu_2 k_2)_5$ sau $(\gamma_2 \lambda_2)_5$ care ajung la o greutate moleculară de 950 KD. Este prima imunoglobulină sintetizată în cadrul răspunsului imun primar și este prima care apare în cir-

culaţia nou-născutului. Activează sistemul complement şi joacă rol în opsonizarea şi aglutinarea bacteriilor. Isohemoaglutininele grupelor de sânge AOB, factorul reumatoid, precum şi anticorpii anti-spirochete şi antitripanosome aparţin acestei clase de imunoglobuline.

IgD se găseşte în circulaţie în cantităţi extrem de reduse (sub 3 mg/dl) fiind ataşată la suprafaţa limfocitelor B şi având rol de receptor pentru antigene.

IgE este sintetizată de către plasmocite în întreg ţesutul limfoid, dar mai ales în cel din mucoasa intestinală şi mucoasa tractului respirator. Nivelele plasmatice de IgE sunt joase (sub 1 mg/dl), aceste imunoglobuline fixându-se rapid pe membranele mastocitelor şi a bazofilelor. Legarea antigenelor de către IgE fixate pe membranele celulelor amintite determină degranularea celulelor şi eliberarea de kinine, prostaglandine şi histamină cu rol de mediatori în hipersensibilitatea imediată. Se consideră că fenomenele din astmul bronşic şi febra de fân s-ar produce prin mecanismul mai sus amintit (53,54).

Implicaţii în patologie. Anomaliile suferite de imunoglobuline se traduc fie prin hiperimunoglobulinemii policlonale sau monoclonale, fie prin diverse deficite.

2.2.13.1. HIPERIMUNOGLOBULINEMII POLICLONALE

Răspunsul imun declanşat ca urmare a unei infecţii se exprimă prin proliferarea mai multor clone de plasmocite şi implicit prin creşterea mai multor clase de imunoglobuline. Acest tip de răspuns imun se datorează faptului că antigenele care l-au provocat sunt dotate cu mai mulţi epitopi. Se realizează astfel o creştere globală a gamaglobulinelor la electroforeza serului (care realizează o bandă lată, iar la fotometrare aspect de clopot cu baza în jos), iar

Tabel 2.4.

Nivelul de imunoglobuline serice în diferite boli

Boala	IgG	IgA	IgM
Colagenoze			
Lupus eritematos sistemic	++	N/+	++
Poliartrita reumatoidă	N/+++	+++	++
Sclerodermie	N/+	N	N/+
Sindrom Sjogren	N/+	N/+	N/++
Boli hepatice			
Hepatita virală acută	N/+	N/+	N/++
Hepatita cronică activă	++	+	N/++
Ciroza hepatică	+++	++	N/++
Ciroza biliară primară	N	N	+++
Boli infecţioase			
Mononucleaza infecţioasă	++	N/+	N/++
Tuberculoza	++	N/+	N/+
Endocardita bacteriană	++	N/+	+++
Actinomicoza	+++	++	+++

N = valori normale; + = valori crescute

dozarea cantitativă a imunoglobulinelor precizează care clasă de imunoglobuline sunt predominant crescute (tabel 2.4).

Creşterea nivelului seric al gamaglobulinelor şi respectiv al imunoglobulinelor nu implică în mod necesar un rol patogen în generarea unor leziuni tisulare. Pentru a se putea susţine implicarea imunoglobulinelor într-un poces patologic localizat, creşterea nivelului lor în ser ar trebui corelată cu prezenţa de complexe imune circulate (CIC) şi cu eventuale depozite tisulare de imunoglobuline.

2.2.13.2. HIPERIMUNOGLOBULINEMII MONOCLONALE

Proliferarea unei singure clone de celule de tip B se asociază cu producerea unei populaţii omogene de imunoglobuline, realizând hiperimunoglobulinemia monoclonală. În ser sau urină se detectează aşa-zise "paraproteine" sau "component M" care sunt de fapt imunoglobuline sau fragmente de imunoglobuline produse în exces. Din punct de vedere funcţional aceste imunoglobuline pot exercita funcţia de anticorpi faţă de unele antigene microbiene, însă, datorită scăderii celorlalte clase de imunoglobuline se ajunge la imunodeficienţă.

Entităţile mai bine definite în cadrul gamapatiilor monoclonale sunt, în ordine descrescândă a incidenţei lor, mielomul multiplu, macroglobulinemia Waldenström, boala lanţurilor grele şi amiloidoza primară. În ansamblu, aceste boli se întâlnesc cu o frecvenţă de 3 cazuri noi la 100 000 indivizi pe an. Peste vârsta de 60 de ani incidenţa ajunge la doi la mie pe an, iar în grupa de vârstă de peste 90 de ani această incidenţă urcă la 17-19% pe an (15).

Transformarea malignă a celulelor limfocitare B poate surveni în diverse etape ale procesului de maturare (vezi fig.2.8).

Limfoamele cu celule B şi leucemiile limfoide cronice, evoluând cu proliferarea limfocitelor de talie redusă, se caracterizează printr-o producţie scăzută de imunoglobuline (exceptând mici cantităţi de IgM). Proliferarea survenită într-un stadiu mai avansat de maturare şi, respectiv, acumularea unor forme intermediare între limfocitul B şi plasmocit real-

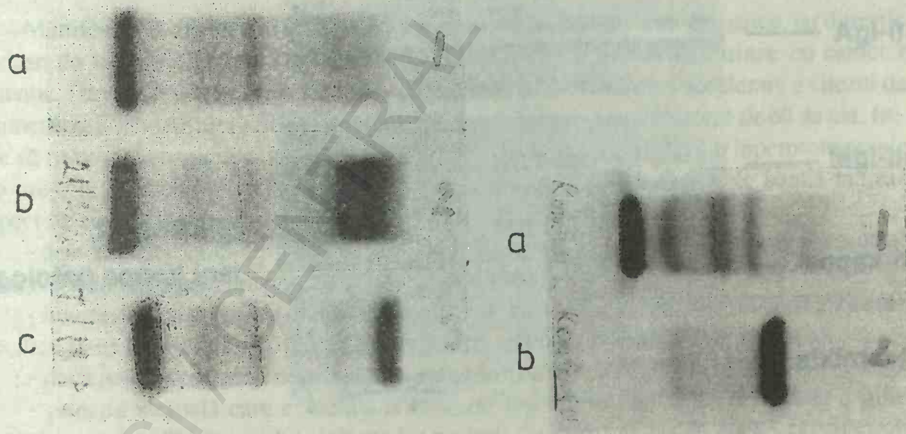


Fig. 2.9. Aspectul proteinogramei în agaroză din:
A. ser normal (a); ser cu creşterea policlonală a gamaglobulinelor (b); ser cu creşterea monoclonală a imunoglobulinelor (c).
B. Aspectul electroforetic într-un caz fără component monoclonal (M) în ser (a), dar cu prezenţa de lanţuri uşoare în urină (b).

izează macroglobulinemia Waldenström, evoluând cu producerea unor cantităţi considerabile de IgM, iar proliferarea malignă a unor clone de plasmocite, mai mult sau mai puţin mature, realizează mielomul multiplu în care se produce un exces de IgG, cu ceva mai rar IgA şi cu mult mai rar IgD sau IgE.

Mielomul multiplu

Triada diagnostică clasică din mielomul multiplu constă din plasmocitoza medulară (peste 7% din totalul elementelor nucleate), leziunile osteolitice şi prezenţa componentei M în ser sau urină. Componenta M provine din clasa de imunoglobuline ale cărei clone producătoare proliferează. În 53% din cazuri se constată creşteri ale IgG, în 25% creşteri ale IgA, iar în abia 1% a cazurilor creşteri ale IgD.

De notat că în aproximativ 20% din cazuri se produc numai lanţuri uşoare care se elimină prin urină sub forma proteinelor Bence-Jones, iar electroforeza serului evidenţiază o hipogamaglobulinemie. De notat că şi în condiţii fiziologice, plasmocitele produc cu 10% mai multe lanţuri uşoare decât lanţuri grele, dar în cazul mielomului multiplu, producerea de lanţuri uşoare se accentuează foarte mult, astfel încât 75% dintre pacienţii cu mielom prezintă eliminări urinare de lanţuri uşoare.

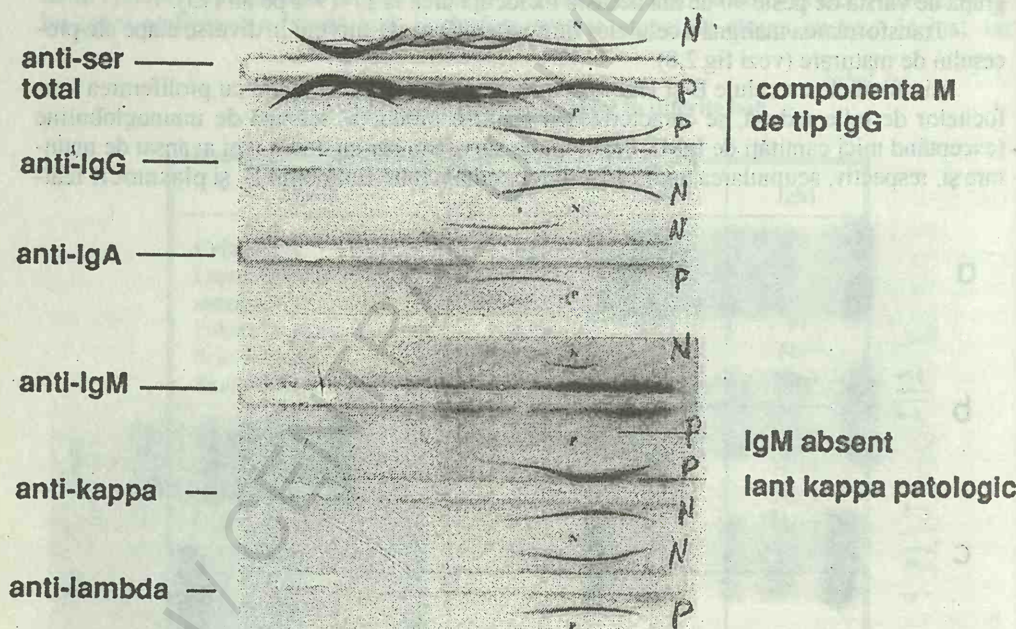


Fig. 2.10. Aspectul imunoelectroforezei serului la un bolnav cu mielom multiplu de tip IgG-k. Se constată prezenţa unei componente monoclonale (M) identificate prin evidenţierea unui cerc de imunoprecipitare foarte exprimat, atunci când se utilizează antiserul anti IgG şi cel anti-lanţ uşor k. Arcul de precipitare cu anti IgA este redus, iar cel cu anti-IgM este absent. N - ser de control sănătos; P - ser de pacient cu mielom multiplu

IMUNOFIXARE

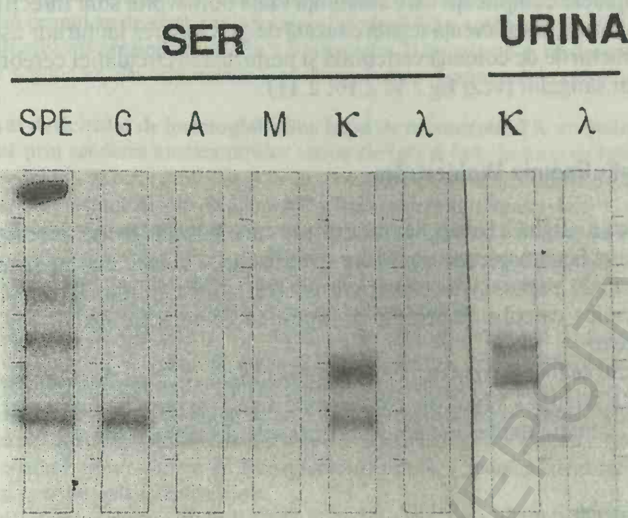


Fig.2.11. Aspectul imunofixării serului şi urinei la un bolnav cu mielom multiplu de tip IgG-k. Se observă apariţia unor benzi de imunofixare, atunci când se utilizează antiserul anti-IgG şi cel anti-lanţ uşor k. În urină se observă prezenţa proteinelor Bence-Jones reprezentate de lanţul uşor k. Test efectuat cu un kit furnizat de Ciba-Corning (din colecţia Dr.H.Rus).

Manifestările clinice din mielomul multiplu sunt destul de necaracteristice, iar durerile produse de leziunile osoase sunt adesecori interpretate ca dureri articulare cu caracter reumatic. Din acest motiv, orice alterare a stării generale asociată cu o accelerare a vitezei de sedimentare a hematiilor (VSH > 90 mm/oră), survenite la un subiect trecut de 60 de ani, trebuie să trezească suspiciuni, iar dacă examenul proteinelor serice relevă o hiperproteinemie şi o creştere a fracţiunii electroforetice gama (mai rar beta) sub formă de bandă îngustă (aspect de pisc la fotometrare) se va trece la examinări ţintite care implică:

- determinarea cantitativă a IgG, IgA, IgM. De regulă, în mielomul multiplu se constată creşterea marcată a unei singure clase (IgG sau IgA) şi scăderea celorlalte clase;
- imunoelectroforeza sau imunofixarea serului şi a urinii concentrate, utilizând antiseruri specifice (anti IgG, anti IgA), precum şi antiseruri anti lanţuri uşoare (anti k, anti λ);
- dacă aceste teste sunt negative se recurge la determinarea IgD şi IgE;
- puncţia sternală care evidenţiază în cazul mielomului multiplu o creştere a plasmocitelor cu peste 7% din totalul elementelor nucleate ale măduvei, iar, de regulă, plasmocitele sunt dispuse în cuiburi şi prezintă diverse atipii;
- radiografiile oaselor scurte şi late (calotă, bazin, vertebre) evidenţiază zone de osteoliză.

Examinările pot fi completate cu determinarea hemogramei care poate evidenţia o anemie, o leucopenie şi o trombocitopenie, dozarea ureei şi creatininei serice pentru a se depista

o eventuală afectare renală, acidul uric şi β_2 microglobulina (β_2m) ca măsură a degradării accelerate a plasmocitelor, calcemia, a cărei creştere poate indica distrucţiile osoase. De notat că, în majoritatea cazurilor de mielom multiplu, fosfataza alcalină se situează în limite normale. Principalele complicaţii care ameninţă viaţa bolnavului sunt infecţiile intercurente, date de deficitul imun, insuficienţa renală cauzată de precipitarea lanţurilor uşoare în lumenul tubilor renali, fracturile de coloană vertebrală şi perturbarea circulaţiei cerebrale consecutivă hipervâscozităţii sângelui (vezi fig.2.9; 2.10; 2.11).

Macroglobulinemia Waldeström

Proliferarea malignă a limfoplasmocitelor care secretă IgM se asociază de regulă cu limfoadenopatie şi hepatosplenomegalie iar menifestările clinice majore sunt date de hipervâscozitate, alături de anemie şi de scăderea rezistenţei la infecţii. Alte deosebiri faţă de mielom sunt lipsa leziunilor osteolitice precum şi faptul că eliminările urinare de lanţuri uşoare survin doar rareori.

Diagnosticul se face pe baza aspectului monoclonal al electroforezei proteinelor serice, creşterea marcată şi izolată a IgM (de regulă peste 3 g/dl) şi prezenţa în frotiul medular a limfoplasmocitelor, care de multe ori apar şi în frotiurile de sânge periferic.

Boala lanţurilor grele

Aceste boli limfoplasmocitare sunt mai rar întâlnite, iar manifestările clinice diferă în funcţie de isotipul de lanţ greu. Astfel de bolnavi secretă un lanţ greu incomplet care contine un fragment Fc intact şi o depleţie în regiunea Fab, în timp ce lanţurile uşoare k şi λ lipsesc. S-au descris boli ale lanţurilor grele γ (din IgG), ale lanţurilor α (din IgA) şi ale lanţurilor μ (din IgM). Diagnosticul se face prin evidenţiarea lanţului greu în ser sau urină şi prin lipsa lanţurilor uşoare. Pacienţii cu boala lanţurilor grele prezintă o rezistenţă deosebit de scăzută faţă de infecţii (1,55).

2.2.13.3. SINDROAME DE IMUNODEFICIENŢĂ PRIN SCĂDEREA PRODUCŢIEI DE IMUNOGLOBULINE

Cu rare excepţii, deficitul imunităţii umorale se asociază cu valori scăzute ale nivelului seric al unei sau mai multor clase de imunoglobuline. De notat că definirea limitei inferioare a normalului întâmpină dificultăţi, datorită limitelor relativ largi ale concentraţiilor serice ale imunoglobulinelor. Se consideră totuşi că valori ale IgG sub 500 mg/dl (< 63 UI/ml), valori ale IgA sub 50 mg/dl (< 36 UI/ml) şi valori ale IgM sub 40 mg/dl (< 50 UI/ml) pot fi interpretate în sensul unui deficit al imunităţii umorale. Astfel de subiecţi vor fi investigaţi şi în privinţa capacităţii lor de a elabora anticorpi specifici, cum sunt cei antistreptolizina O (ASLO) sau cei induşi după vaccinarea cu anatoxină difterică sau tetanică.

Este de asemenea importantă determinarea numărului de limfocite B circulante, prin citofluorimetrie, utilizând anticorpi monoclonali specifici. Se descriu mai multe variante ale deficitului imunităţii umorale şi există diverse clasificări bazate pe criterii complexe. În cele ce urmează se vor prezenta doar câteva exemple ilustrative.

Agamaglobulinemia legată de cromozomul X este prototipul imunodeficiențelor umorale primare, fiind denumită şi agamaglobulinemia Bruton, după numele celui care a descris-o inițial. Acest sindrom apare doar la copii de sex masculin şi este cauzată de absența de pe cromozomul X, a genei care codifică o kinază implicată în sinteza imunoglobulinelor. Deficitul se manifestă prin infecții recurente care apar încă din primul an de viață, iar laboratorul evidențiază o scădere marcată a valorilor IgG, IgA şi IgM. Subiecții afectați prezintă o scădere a limfocitelor B circulante şi un deficit al foliculilor limfatici primari şi secundari, dar limfocitele T nu sunt afectate. Tratamentul constă în administrarea de imunoglobuline.

Sindromul deficitului de imunoglobuline legat de cromozomul X evoluând cu IgM crescut se caracterizează prin scăderea concentrațiilor serice ale IgG şi IgA, în timp ce IgM şi IgD apar crescute. Se asociază cu hiperplazie limfoidă şi neutropenie, iar clinic se manifestă prin infecții recurente. Tratamentul constă în administrarea de gamaglobuline asociată antibioterapiei.

Imunodeficitul comun variabil include un grup heterogen de adulți de ambele sexe, caracterizați prin scăderi în grade diferite a IgG, IgA şi IgM (cu valori normale sau chiar crecute de IgE). De notat că numărul de limfocite B nu este scăzut. Acest deficit trebuie căutat la adulții care prezintă infecții pulmonare cronice, gastrită atrofică, malabsorbție sau boli intestinale.

Deficitul selectiv de IgA este forma cea mai frecvent întâlnită având o incidență în populație de 1/500 şi fiind caracterizat prin scăderea ambelor subclase de IgA. Mulți astfel de subiecți sunt aparent sănătoşi, în timp ce alții dezvoltă infecții respiratorii recurente, diarei cronice şi o mare incidență a infecției cu Giardia (lambliază). Subiecții cu deficit de IgA prezintă o predispoziție pentru bolile evoluând cu complexe imune (de exemplu lupusul eritematos sistemic şi poliartrita reumatoidă). Tratamentul este doar simptomatic, deoarece administrarea de gamaglobuline sau de plasmă poate duce la apariția de anticorpi anti-IgA şi la manifestări anafilactice.

Sindromul de hiperimunoglobulinemie E (sindromul Job) este o boală cu debut în copilărie, manifestată prin infecții recurente, mai ales stafilococice la nivel tegumentar şi pulmonar. Laboratorul evidențiază o creştere a nivelului seric IgE, eozinofilie moderată şi deficit în funcția neutrofilelor (56).

Hipogamaglobulinemia tranzitorie a nou-născutului apare între a treia şi a şasea lună de viață şi se datorează faptului că IgG provenite transplacentar de la mamă au fost catabolizate, în timp ce sinteza propriilor imunoglobuline este abia la început. Acest deficit se rezolvă de regulă spontan.

Pe lângă deficitele umorale amintite mai sus s-au depistat şi anomalii complexe afectând atât limfocitele B cât şi limfocitele T şi care incumbă şi un deficit al imunității celulare. Descrierea acestor deficite complexe ar depăşi însă scopul acestui capitol axat pe anomaliile proteinelor plasmatice.

2.3. TIPURI DE DISPROTEINEMIE

Conform celor relatate pe parcursul acestui capitol, concentrațiile diverselor proteine plasmatice se modifică în extrem de numeroase stări patologice. Interpretarea acestor modificări este uşurată de faptul că ele pot fi încadrate în câteva tipuri de disproteinemie care pot fi diferențiate prin simpla electroforeză a proteinelor serice. Principalele aspecte realizate de proteinogramă în patologia clinică sunt relatate în figura 2.12.

a. **Disproteinemia reactivă din inflamația acută** se caracterizează prin creşterea fracțiunilor electroforetice α_1 şi α_2, iar analiza diferențiată prin metode imunochimice relevă creşterea reactanților de fază acută (α_1AT, α_1CT, α_1 glicoproteina acidă, haptoglobinele, CRP şi ceruloplasmina) în timp ce albumina serică, colinesteraza serică, transferina şi lipoproteinele scad. Creşterea fibrinogenemiei duce la accelerarea VSH. Rolul citokinelor în declanşarea acestor modificări a fost prezentat la începutul acestui capitol.

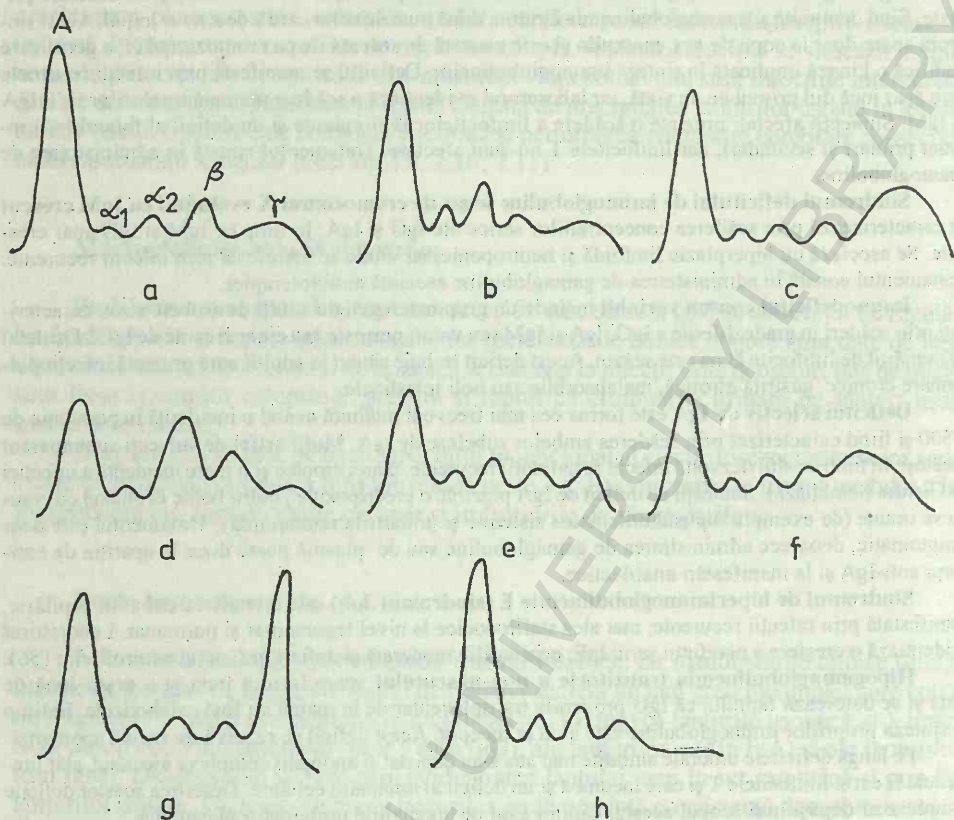


Fig. 2.12. Tipuri de disproteinemie (exemple ilustrative).
a) aspect normal (vezi tabel 2.1.a); b) inflamaţia acută; c) inflamaţie cronică; d) sindrom nefrotic; e) enteropatie exudativă; f) ciroză hepatică; g) hiperimunoglobulinemie monoclonală; h) hipogamaglobulinemie.

Graficele reprezintă aspecte realizate prin fotometrarea foreogramelor.

b. Disproteinemia reactivă din inflamaţia cronică este caracterizată prin creşterea gamaglobulinelor, consecutivă proliferării reactive a mai multor clone de plasmocite. Creşterea imunoglobulinelor are deci un caracter policlonal, dar unele clase de imunoglobuline pot creşte mai mult în anumite boli (vezi tabel 2.4). De notat că în cursul unui puseu evolutiv al unui proces inflamator cronic se poate ajunge la o creştere a α_1 şi α_2 globulinelor precum şi a fibrinogenemiei. Merită subliniat faptul că în endocardita infecţioasă subacută cresc mai ales gamaglobulinele, pe când într-o endocardită reumatică recidivantă predomină creşterea α_2 globulinelor.

c. Disproteinemia prin pierderea urinară de proteine se întâlneşte în sindromul nefrotic. Aspectul caracteristic este dat de scăderea proteinelor totale, scăderea albuminemiei şi creşterea marcată a α_2 globulinelor şi în mai mică măsură a β globulinelor; în formele severe se mai constată o scădere a gamaglobulinelor. Principala cauză a acestor modificări este

creşterea permeabilităţii filtrului glomerular faţă de proteine. De fapt, pierderile urinare interesează mai ales proteinele cu greutate moleculară relativ joasă (albumina, α_1AT, α_1CT, α_1GA, AT III, transferina) în timp ce proteinele şi lipoproteinele cu greutate moleculară mare (α_2M, fibrinogen, IgM, lipoproteinele, colinesteraza serică, fibronectina, factorul XIII) sunt reţinute. Această reţinere nu poate explica însă, pe deplin, creşterea în valori absolute a unor proteine plasmatice cu greutate moleculară ridicată (De ex. α_2M creşte la valori duble sau triple faţă de media normalilor). În realitate, scăderea presiunii coloidosmotice cauzată de pierderi urinare de albumină, stimulează global sinteza hepatică de proteine, iar cele cu greutate moleculară mare se reţin. De notat că factorii coagulării dependenţi de vitamina K (protrombina, factorii VII, IX şi X precum şi proteina C a coagulării) nu se pierd prin urină deşi au greutăţi moleculare relativ joase (50-70 KD). Această comportare particulară se datorează faptului că factorii menţionaţi sunt prevăzuţi cu grupări γ-carboxiglutamice care le conferă o puternică încărcare electronegativă, fiind respinşi de membrana electronegativă a capsulei Bowman.

d. **Disproteinemia prin pierderea enterală de proteine** survine în enteropatia exsudativă şi este cauzată de o creştere a permeabilităţii tractului digestiv pentru substanţe macromoleculare, fapt demonstrabil prin urmărirea apariţiei în sucul intestinal şi în materiile fecale a albuminei serice marcate cu ^{131}I şi injectată intravenos. Întrucât proteinele ajunse în lumenul digestiv sunt supuse atacului enzimelor proteolitice din sucurile digestive, se ajunge la o hiperaminoacidemie şi hiperaminoacidurie. Aceste observaţii denotă că pierderea de proteine în tubul digestiv este parţial compensată prin absorbţia intestinală de aminoacizi. Se ajunge totuşi la hipoproteinemie, dar aspectul proteinogramei diferă de cel întâlnit în sindromul nefrotic, respectiv α_2 globulinele nu sunt atât de crescute, iar hiperlipoproteinemia lipseşte.

e. **Disproteinemia din afecţiunile hepatice** realizează aspecte diferite în funcţie de etiologie şi de stadiul evolutiv al hepatopatiei.

Modificările proteinogramei din **hepatita virală acută** sunt puţin exprimate şi necaracteristice, având o valoare diagnostică redusă, mai ales în comparaţie cu creşterea impresionantă a aminotransferazelor.

În sindromul posthepatitic, creşterea gamaglobulinelor atrage atenţia asupra evoluţiei spre cronicizare. Ca şi în alte inflamaţii cronice, creşterea gamaglobulinelor la bolnavii cu **hepatită cronică** realizează un aspect policlonal, iar această creştere se accentuează în **cirozele hepatice**. De notat că în **angiocolite** şi în **cirozele biliare** se evidenţiază o creştere moderată a α_2 globulinelor în timp ce creşterea gamaglobulinelor este mai puţin exprimată decât în hepatitele cronice. În stadiile de debut ale **neoplaziilor hepatice** electroforeza proteinelor serice are o valoare diagnostică redusă, dar în adenocarcinomul hepatic cu ciroză, la scăderea albuminelor şi la creşterea gamaglobulinelor se asociază o creştere exprimată a fracţiunii electroforetice α_1. Metode imunologice permit evidenţierea unei α_1 globuline fetale, alfafetoproteina, care, dacă prezintă valori mult crescute (peste 500 ng/ml) sau atunci când cresc de la o examinarea la alta, sugerează un carcinom hepatic primitiv.

f. **Disproteinemia hiperimunoglobulinemiilor monoclonale** (mielom, macroglobulinemie Waldenström, boala lanţurilor grele) prezintă un aspect caracteristic,cu o bandă îngustă intens colorată în domeniul gama şi mai rar beta, care la fotometrare realizeaza o undă în pisc. Aceste anomalii au fost descrise în legătură cu patologia imunoglobulinelor.

g. **Agamaglobulinemia** realizează un aspect caracteristic (vezi fig.2.12) iar cauzele care duc la acest aspect au fost prezentate anterior.

Datele din literatură se referă la aşa-numitele **disproteinemii prin defect** cauzate de deficite ale aparatului genetic, care codifică sinteza unei proteine plasmatice. În principiu, fiecare

proteină plasmatică poate fi afectată de un deficit genetic ducând fie la diminuarea sintezei fie la o mutaţie care îi afectează funcţiile. În prezentul capitol principalele astfel de defecte cum sunt analbuminemia, deficitele de inhibitori ai proteazelor, deficitul de transferină şi deficitul de imunoglobuline au fost prezentate în legătură cu structura şi funcţia acestor proteine plasmatice.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1.Cucuianu,M., Rus,H.G., Niculescu F., Vonica,A. Biochimie. Aplicaţii clinice. Editura Dacia, Cluj-Napoca, 1991.

2.Cucuianu,M., Trif,I., Cucuianu A. Hemostaza. Biochimie, fiziopatologie Clinică. Editura Dacia, Cluj-Napoca, 1994.

3.Bowman,B.H. Hepatic plasma proteins. Academic Press Inc. San Diego, 1993, p.50.

4.Bonifacio,I.S. Reversal of fortune for nascent proteins.Nature, 1996, 384, 405-406.

5.Dinarello,C.A. Interleukin-1 and its biologically related cytokines. Adv.Immunol. 1989, 44:153.

6.Kishimoto,T., Akira,S., Taga,T. Interleukin-6 and its receptor: a paradigm for cytokines. Science, 1992, 258: 593.

7.Baumann,H. Acute phase reaction. In Vitro Cell Dev.Biol., 1989, 21: 115.

8.Baumann,H., Gauldie,J. The acute phase response. Immunol.Today, 1994, 15: 74.

9.Rus,H.G., Kim,L.M., Niculescu,F.I., Shin,M.L. Induction of C3 expression in astrocytes is regulated by cytokines and Newcastle disease virus. J.Immunol. 1992, 148: 928.

10.Gauldie,J., Richards,C., Baumann,H. IL-6 and the acute phase reaction. Res.Immunol., 1992, 143: 755.

11.Rokita,H., Bereta,J., Koj,A., Gordon,A.H., Gauldie,J. Epidermal growth factor and transforming growth factor-beta differently modulate the acute phase response elicited by interleukin-6 in cultured liver cells from man, rat and mouse. Comp.Biochem.Physiol.A., 1990, 95: 41.

12.Halloran,P.F., Cockfield,S.M., Madrenas,J. The mediators of inflammation (interleukin-1, interferon- and tumor necrosis factor) and their relevance to rejection. transplant Proc., 1989, 21: 26.

13.Latchman,D.S. Transscription-factor mutations and disease. N. Engl.J.Med. 1996, 334: 28.

14.Lenardo,M.J., Baltimore,D. NF-kappa B: a pleiotropic mediator of inducible and tissuea-specific gene control. Cell.1989, 58: 227.

15.Whicher,J.T. Abnormalities of plasma proteins in Williams and Marks (Editors). Biochemistry in Clinical practice. William Heinmann Medical Books London, 1983, 221-251.

16.Bowman,B.H., Yang,F. DNA sequencing and chromosomal locations of human plasma protein genes. In" The Plasma proteins: Structure, Function and Genetic Control" (F.W.Putman, ed) 2nd ed., 1987 vol.5, p.l. Academic press, Orlando, Florida.

17.Mackiewicz,A., ganapathi,M.K., Schultz,D., Brabenec,A., Weinstein,J., Kelley,M.F., Kushner,I. Transforming growth factor beta 1 regulates production of acute-phase proteins. Proc.Natl.Acad.Sci. USA., 1990, 87: 1491.

18.Owen,M.C., Brennan,S.O., Lewis,J.H., Carrell,R.W. Mutation of antitrypsin to antithrombin, alpfa 1-antitrypsin Pittsburgh (358 Met leads to Arg), a fatal bleeding disorder. N.Engl.J.Med., 1983, 309-694.

19.Carrel,R.W., Alpha$_1$-Antitrypsin: molecular pathology, leukocytes and tissue damage. J.Clin.Invest, 1986, 78: 1427.
20.Carrell,R.W., Aulak,K.S., Owen,M.C. The molecular pathology of the serpins. Mol.Biol.Med.1989, 6: 35.
21.Cox,D.W., Levison,H. Emphysema of early associated with a complete deficiency of alpha 1-antitrypsin (null homozygotes). Am.Rev.Dis., 1988, 137-371.
22.Sifers,R.N., Shen,R.F., Woo,S.L. Genetic control of human alpha 1-antitrypsin. Mol.Biol.Med. 1989, 6: 127.
23.Sottrup-Jensen, L. $_2$ macroglobulin and related thiol ester proteins. In "The plasma Proteins: Structure, Function and Genetic Control" (F.W.Putman,ed.) Academic Press, New York, 1987, vol.5, p.192.
24.van der Sluijs,P., Meijer,D.K. Binding of drugs with a quaternary ammonium group to alpha-1 acid glycoprotein and asialo alpha-1 acid glycoprotein. J.Pharmacol.Exp.Ther., 1985, 234, 703.
25.Singh,V.K., Fudenberg,H.H. Phencyclidine-induced immuno-depresion, immunocyte receptor sites and protective effect of -1 acid glycoprotein. In "Sigma Phencyclidine-like Compounds as molecular probes in Biology" (H.H.Fundenberg,ed), NPP Books, Ann Arbor, Michigan, 1988, 653.
26.Robey,F.A., Jones,K.D., Tanaka,T., Liu,T.Y. Binding of C-reactive protein to chromatin and nucleosome core particles. A possible psysiological role of C-reactive protein. J.Biol.Chem., 1984, 259: 7311.
27.Kushner,I. C-reactive protein and the acute-phase response. Hosp.Pract. 1990, 25: 13.
28.Sipe,J.D. Induction of the acute-phase serum protein SAA requires both RNA and protein synthesis. Br.J.Exp.Pathol. 1978, 59: 305.
29.Sipe,J.D., Vogel,S.N., Douches,S., Neta,R. Tumor necrosis factor/cachectin is a less potent inducer of serum amyloid A synthesis than interleukin-1. Lymphokine Res. 1987, 6: 93.
30.Sack,G.H., Jr., Talbot, C.C.Jr. The human serum amyloid A (SAA)-encoding gene GSAA1: nucleotide sequence and possible autocrine-collagenase-inducer function. Gene, 1989, 84: 509.
31.Skinner,M., Cohen,A.S. Amyloid P component. Methods Enzymol. 1988, 163, 523.
32.Hawkins,P.N., Lavender,J.P., Pepys,M.B. Evaluation of systemic amyloidosis by scintigraphy with ^{123}I-labelled serum amyloid P component. N.Eng.J.Med. 1990, 323, 508.
33.Bowman,B.H., Yang,F.M., Adrian,G.S. Transferrin: evolution and genetic regulation of expression. Adv.Genet.1988, 25:1.
34.De Jong,G., van Dijk,J.P., van Eijk,H.G. The biology of transferrin. Clin.Chim.Acta, 1990, 190-1.
35.Hynes,R.O. Integrins: a family of cell surface receptors. Cell, 1987, 48: 549.
36.Sekiguchi.J.H., Shiri,A., Zardi,L., Hakomori,S. Differences in domain structures between human fibronectin isolated from plasma and culture supernatants of normal and transformed fibroblasts. J.Biol.Chem., 1985, 260, 5105.
37.Cucuianu,M., Rus,H.G., Cristea,A., Niculescu,F., Bedeleanu,D., Poruţiu,D., Roman,S. Clinical studies on plasma fibronectin and factor XIII: with special reference to hyperlipoproteinemia. Clin.Chi.Acta. 1985, 147:273.
38.Rus,H.G., Cucuianu,A.M., Galea,F., Cristea,A., Uza,G., Cucuianu,M. Plasma fibronectin in peripheral arterial disease. Rev.Roum.Med.Int., 1985, 23: 271.
39.Cucuianu,M., Bodizs,G., Duncea,I., Colhon,D. Plasma fibronectin in overweight men and women: correlation with serum triglyceride levels and serum cholinesterase activity. Blood coagulation and fibrinolysis, 1996, 7, 779.

40. Preissner,K.T. Structure and biological role of vitronectin. Ann.Rev.Cell.Biology, 1991, 7: 275.
41.Niculescu,F., Rus,H.G., Poruţiu,D., Ghiurca,V., Vlaicu,R. Immuno-electron-microscopic localization of S-protein/vitronectin in human atherosclerotic wall. Atherosclerosis, 1989, 78: 197.
42.Revillard,J.P., Vincent,C. Beta$_2$ microglobulin. Nouv.Presse Med., 1976, 5: 2707.
43.Engstrom,W., Hyldahl,L., Wahrgren,P. Urinary excretion of beta$_2$ microglobulin in myeloma patients. Clin.Chim.Acta, 1980, 108: 369.
44.Schaeffer,J., Ehlerding,G., Folge,J., Koch,K.M., Shaldon,S. Beta$_2$ microglobulin amyloidosis: why and how to look for it. Clin., Nephrol., 1995, 44: Suppl. 1: S3.
45.Schambeck,C.M., Barti,R., Hochtlen-Vollmar,W., Wick,M., Lamerz,R., Fateh-Moghadam,A. Characterization of myeloma cells by means of labeling index, bone marrow histology, and serum beta$_2$- microglobulin. Am.J.Clin.Pathol., 1996, 106:64.
46.Shin,M.L., Rus,H.G., Niculescu,F.I. Membrane attack by complement. Biomembranes, 1996, 4: 123.
47. Shin,M.L., Carney,D.F. Cytotoxic action and other metabolic consequence of terminal complement proteins. Prog.Allergy, 1988, 40:44.
48.Bhakdi,S., Tranum-Jensen,J. Damage to mammalian cells by proteins that form transmembrane pores. Rev.Physiol.Biochem.Pharmacol., 1987, 107: 147.
49.Rus,H.G., Niculescu,F., Vlaicu,R. Presence of C5b-9 complement complex and S-protein in human myocardial areas with necrosis and sclerosis. Immunol.Lett., 1987, 16: 15.
50.Rus,H.G., Niculescu,F., Nanulescu,M., Cristea,A., Florescu,P. Immunohistochemical detection of the terminal C5b-9 complement complex in children with glomerular diseases. Clin.Exp.Immunol., 1986, 65: 66.
51.Rus,H.G., Cristea,A., Gherman,M., Niculescu,F., Gavan,M. Immunologic alterations associated with chronic hemodialysis. Rev.Roman.Med.Int., 1983, 21: 289.
52.Niculescu,F., Hugo,F., Rus,H-G., Vlaicu,R., Bhakdi,S. Quantitative evaluation of the terminal C5b-9 complement complex by ELISA in human atherosclerotic arteries. Clin.Exp.Immunol., 1987, 69: 477.
53.Janeway,C.A., Travers,P. Immunobiology. The immune system in health and disease. Garland Publication Inc.Ney York, 1996.
54.Abbas,A.K., Lichtman,A.H., Pober,J.S. Cellular and Molecular Immunology, 1996, W.B.Sanders, Philadelphia.
55.Bronet,J.C., Fermand,J.P. Multiple Myeloma. In: Samter's Immunologic Diseases. Ed.Frank, MM, Austen,K.F., Claman,H.N., Unanue,E.R., Little Brown & Co., Boston, 1995, 623-636.
56.Waldmann, T.A., Nelson,D.L. Immunodeficiency syndrome. In: Samter's Immunologic Diseases. Ed.Frank, MM, Austen,K.F., Claman,H.N., Unanue,E.R., Little Brown & Co., Boston, 1995, 387-430.

ÎNTREBĂRI DE CONTROL

1. Care dintre proteinele şi enzimele de mai jos prezintă o scădere a nivelului lor plasmatic în cursul reacţiei de fază acută indusă de citokinele proinflamatorii:

A. α_1 antitripsina
B. Ceruloplasmina
C. Colinesteraza serică
D. Proteina C reactivă (CRP)
E. Fibrinogenul
F. Albumina serică
G. Transferina
H. α_1 glicoproteina acidă
I. Inhibitorul activării plasminogenului (PAI-1)

2. Stabiliţi corespondenţa între deficitele cu caracter familial ale unor inhibitori de proteaze şi consecinţele pe plan clinic:

A. Deficit de α_1 antitripsina
B. Deficit de antitrombină III
C. Deficit de α_2 antiplasmină
D. Deficit de C1 inhibitor

I. Tromboze recurente la vârstă tânără
II. Hemoragii prelungite după extracţii dentare
III. Emfizem panlobular
IV. Edem angioneurotic

3. Care din proteinele de mai jos prezintă de regulă creşteri marcate la bolanvii cu sindrom nefrotic sever:

A. Albumină serică
B. α_1 antitripsina
C. Colinesteraza serică
D. Betalipoproteinele
E. α_2 macroglobulina
F. Fibrinogenul
G. Imunoglobulina G
H. Transferina
I. Antitrombina III

4. Care din anomaliile depistabile prin metode de laborator **nu** se întâlneşte la bolnavi cu boala lanţurilor grele:

A. Creşterea plasmocitelor în frotiul de sânge medular la valori peste 7% din totalul elementelor nucleate.
B. Prezenţa unui fragment de lanţ greu al unei anumite imunoglobuline în ser şi urină.
C. Creşterea exprimată în ser şi urină a lanţurilor K sau λ.

5. Stabiliţi corespondenţa între proteinele plasmatice de mai jos şi funcţia lor:

A. Transferina
B. Fibronectina
C. Vitronectina
D. Haptoglobinele

I. Rol în repararea ţesuturilor
II. Transportă fierul spre organele prevăzute cu receptori
III. Leagă hemoglobina într-un complex care este rapid captat de macrofage
IV. Inhibă complexul terminal al sistemului complement; leagă PAI-I fără a-i reduce activitatea.

6. Având greutăţi moleculare deosebit de ridicate, resturile de VLDL, resturile de chilomicroni, α_2 macroglobulina şi factorul von Willebrand se catabolizează de preferinţă:

A. în ficat
B. în endoteliile vasculare
C. în celulele tubilor renali
D. în aceeaşi măsură în toate aceste ţesuturi

7. Care sunt complicaţiile care ameninţă viaţa unui bolnav cu mielom multiplu:

A. Infecţii intercurente favorizate de deficitul imun
B. Insuficienţa renală cauzată mai ales de precipitarea lanţurilor uşoare în tubii renali
C. Tulburări de circulaţie cerebrală datorită hipervâscozităţii
D. Toate acestea
E. Nici una din ele.

8. α_2 macroglobulina prezintă creşteri importante în cursul reacţiei de fază acută **deoarece** face parte din familia serpine.

9. α_1 antitripsina creşte în cursul reacţiei de fază acută **deoarece** sinteza sa este stimulată de citokine.

10. Mutaţia 358 Met → Arg în molecul α_1 antitripsină se soldează cu hemoragii **deoarece** această mutantă (mutanta Pittsburg) inhibă trombina.

11. Nivelul plasmatic de antitrombină III scade în sindromul nefrotic, **deoarece** acest inhibitor de proteaze este sintetizat în ficat.

12. Nivelul plasmatic de fibronectină creşte la subiecţii cu obezitate androidă **deoarece** aceşti subiecţi prezintă de regulă o scădere a activităţii colinesterazei serice.

13. În majoritatea cazurilor de mielom multiplu se constată o hipoproteinemie **deoarece** aceşti bolnavi elimină prin urină lanţuri uşoare de imunoglobuline.

14. Bolnavii cu macroglobulinemie Waldenström prezintă o susceptibilitate crescută la infecţii **deoarece** prezintă o creştere marcată a IgM şi o hipervîscozitate a serului.

Cheia pentru răspunsuri la întrebările 8-14:

a. ambele afirmaţii corecte şi legate cauzal

b. ambele afirmaţii corecte dar nelegate cauzal

c. prima afirmaţie coerctă, a doua incorectă

d. prima afirmaţie incorectă, a doua corectă

e. ambele afirmaţii incorecte.

3. CONCEPTE DE BAZĂ ÎN INTERPRETAREA VARIAȚIILOR PATOLOGICE ALE ENZIMELOR SERICE

După enzimologi (24,25,27) viața ar fi o funcție armonioasă a enzimelor, iar bolile s-ar putea defini ca fiind deficite sau dezordini ale sistemelor enzimatice. O astfel de definiție, voit exagerată, este desigur menită să atragă atenția asupra importanței sistemelor enzimatice, a căror perturbare se situează între verigile patogenice cele mai importante.

Pentru practica clinică este în primul rând important de a stabili mecanismele care duc la modificări ale enzimelor detectabile prin metodele laboratorului clinic, respectiv de a se preciza valoarea diagnostică şi limitele determinărilor de enzime.

Pe de altă parte, hormonii, citokinele şi o mare parte a medicamentelor acționează prin intermediul sistemelor enzimatice, stimulând sau inhibând aceste sisteme prin diverse mecanisme. Din acest motiv este necesară o scurtă trecere în revistă a unor probleme cu caracter mai general privind noțiunea de enzimă, localizarea intracelulară a enzimelor, clasificarea şi mecanismul de acțiune a enzimelor, factorii de care depinde viteza unei reacții enzimatice, precum şi mecanismele de activare, de degradare şi de eliminare din organism a diverselor enzime.

3.1.DATE GENERALE PRIVIND ENZIMELE

Enzimele sunt proteine produse de celulele vii şi dotate cu funcții catalitice specifice. Ele catalizează reacții enzimatice care, în lipsa lor, ar putea decurge doar foarte lent sau la temperaturi ridicate incompatibile cu viața. În calitatea lor de catalizatori, enzimele sunt dotate cu următoarele proprietăți: sunt eficiente în cantități mult mai reduse decât substanțele pe care le transformă şi care poartă denumirea de substrate; rămân practic neschimbate la sfârşitul reacției catalizate; nu modifică echilibrul unei reacții reversibile dar accelerează viteza cu care acest echilibru este atins.

Totodată, în calitatea lor de proteine, enzimele prezintă toate caracteristicile legate de structurile compuşilor proteici, putând fi denaturate de agenți care le alterează conformația şi putând fi separate şi purificate cu ajutorul tehnicilor utilizate în studiul proteinelor.

O proprietate importantă a reacțiilor enzimatice care au loc în celulele vii (**in vivo**) constă în posibilitatea de a fi susceptibile față de o reglare biologică, putându-şi creşte sau limita activitatea în funcție de anumite semnale şi oarecum în funcție de necesități.

Întrucât marea majoritate a reacțiilor biochimice sunt catalizate de enzime specifice, numărul de enzime descoperite şi descrise este în continuă creştere depăşind la ora actuală cifra de 2000.

3.1.1. CLASIFICAREA ŞI NOMENCLATURA ENZIMELOR

Conform recomandării Comisiei pentru enzime (Enzyme Commission) a Uniunii Internaţionale de biochimie, denumirea enzimelor se bazează pe următoarele criterii:

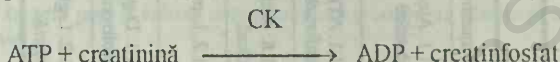
A. enzimele se împart în 6 clase principale în funcţie de tipul reacţiei catalizate (vezi tabel 3.1).

B. Numele fiecărei enzime are două părţi. Prima parte indică substratul sau substratele asupra cărora acţionează enzima; a doua parte a denumirii indică tipul de reacţie catalizată, iar la sfârşit se adaugă sufixul <u>ază</u>.

C. Informaţii suplimentare privind eventualele particularităţi ale reacţiei catalizate pot fi date în paranteză.

D. Fiecare enzimă are un număr de cod: prima cifră indică tipul de reacţie (clasa de enzime); eventuala subclasificare este semnalată de următoarele două cifre iar a patra cifră indică enzima individuală din respectiva clasă. Numărul de cod este precedat de iniţialele EC (Enzyme Commission).

Aşa de exemplu creatinkinaza (CK, notată şi CPK) care catalizează reacţia



$$\text{ATP + creatinină} \xrightarrow{\text{CK}} \text{ADP + creatinfosfat}$$

ar avea ca denumire ştiinţifică: ATP - creatinfosfotransferază iar numărul de cod ar fi EC 2.7.3.2 (2 pentru clasa transferazelor, 7 pentru subclasa fosfotransferazelor, 3 pentru grupul de fosfotransferaze având ca acceptor un radical nitrogen, iar 2 pentru locul enzimei în cadrul subgrupei).

Conform aceluiaşi principiu, o serie de enzime determinate în mod curent în laboratorul clinic ar căpăta denumiri recomandate de EC. De exemplu:

- transaminaza glutamic oxalacetică (GOT) ar deveni EC 2.6.1.1. L-aspartat-2-oxoglutarat aminotransferază (ASAT sau AST);
- transaminaza glutamic-piruvică (GPT) s-ar denumi corect EC 2.6.1.2. L-alanin-2 oxogluterat aminotransferază (ALAT sau ALT);
- lactatdehidrogenaza (LDH) s-ar denumi EC 1.1.1.27. L-lactat NAD oxidoreductază;
- colinesterază serică (CHE) s-ar defini ca EC 3.1.1.8 acilcolinacilhidrolază.

Astfel de denumiri şi numere de cod facilitează găsirea enzimelor în cataloage şi evită confuziile, dar îngreunează comunicarea rapidă între secţiile clinice (incluzând şi personal mediu) şi laborator. Din acest motiv, denumirile uzuale ale enzimelor (şi de cele mai multe ori doar prescurtările acestor denumiri) înrădăcinate în patologia clinică se vor folosi pe parcursul acestui capitol.

3.1.2. STRUCTURA ŞI MECANISMUL DE ACŢIUNE ALE ENZIMELOR

Perfecţionarea tehnicilor de separare şi purificare ale enzimelor, alături de studii de difracţie a razelor X de către un cristal de protein-enzimă, precum şi stabilirea de corelaţii între activitatea unei enzime şi eventualele modificări induse în compoziţia în aminoacizi a enzimei au permis o mai bună înţelegere a structurii enzimelor şi totodată a mecanismului de acţiune.

Orice enzimă prezintă un **centru activ** în care diverşii radicali aminoacidici sunt aranjaţi spaţial în aşa fel încât să permită fixarea şi modificarea substratului. Aşa de exemplu centrul activ al colinesterazei conţine acid glutamic (radical acid COO-) de care se fixează gru-

Tabel 3.1.

Clasificarea şi nomenclatura enzimelor

Clasa	Reacţii catalizate	Exemple de subclase	Exemplu ilustrat cu:	
			Denumirea ştiinţifică	Denumirea uzuală
1. Oxidoreductaze	Oxidarea unui substrat (S) concomitent cu reducerea altuia (S'); S redus + S' oxidat → S'redus + S oxidat	1-1 Acţionând asupra grupării CH-OH	EC 1.1.1.1. Alcool-NAD oxidoreductază	Alcool dehidrogenază
2. Transferaze	Transferul unie grupări G de pe un substrat pe altul SG+S' → S+S'G	2-7 Transfer de grupări fosfat (fosfotransferaze)	EC 2.7.1.1. ATP-D-hexozo-6fosfotranferază	Hexokinază
3. Hidrolaze	Hidroliza legăturilor eter, ester, peptid, glicozil;	3-1 Acţionând asupra legăturii ester	EC 3.1.1.8. Acilcolin-acilhidrolază	Colinesterază
4. Liaze	Îndepărtează grupări de pe substrat lăsând în loc duble legături	4-2 Carbonoxigenliază	EC 4.2.1.2. L-malat-hidroliază	Fumarază
5. Izomeraze	Interconversiunea izomerilor	5-3 Interconversiunea aldozelor şi cetozelor	EC 5.3.1.1. D-glicerol-aldehid-3-fosfat-ketolizomerază	Triozofosfat izomerază
6. Ligaze	Formarea legăturilor C-O, C-N, C-S în reacţii cuplate cu degradare de ATP	6-3 Formarea legăturii C-N	EC 6.3.1.2. L-glutamat-amoniuligază	Glutaminsintetază

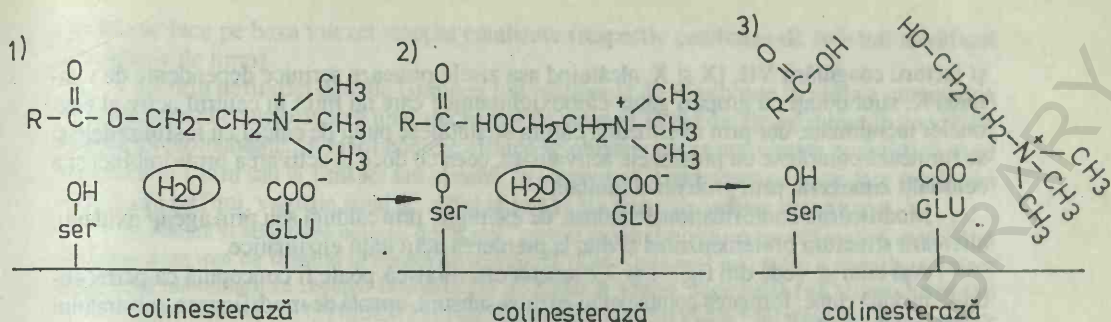


Fig.3.1. Exemplu ilustrativ privind structura centrului activ al unei enzime. În cazul colinesterazei serice (CHE) principalii constituenţi ai centrului activ sunt o grupare anionică (-COO-) şi un radical serină. Reacţia catalizată de CHE ar decurge în următoarele etape: 1) alinierea substratului acilcolină la centrul activ al enzimei; 2) desfacerea legăturii ester a acilcolinei şi formarea unei legături ester trecătoare între acidul gras şi radicalul serină din centrul activ al CHE; 3) adiţionarea unei molecule de H_2O şi desfacerea legăturii tranzitorii dintre serină şi acidul gras. Rezultatul final al acestei reacţii de hidroliză este scindarea acilcolinei în acid gras şi colină, care reprezintă produşii de reacţie şi care se desprind apoi de pe suprafaţa enzimei.

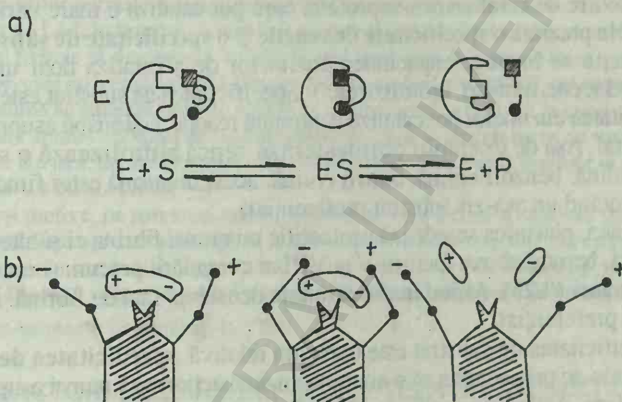


Fig.3.2. Reprezentarea schematică a formării complexelor enzimă substrat. E = enzimă; S = substrat; P = produs de reacţie; a) ipoteza tiparului rigid conform căruia substratul se potriveşte în centrul activ al enzimei "precum cheia în broască"; b) ipoteza modificărilor conformaţionale suferite de enzimă în cursul fixării substratului.

parea bazică a colinei (-$N^+(CH_3)_3$) şi un radical serină prevăzută cu un oxidril prin care stabileşte o legătură ester tranzitorie cu acidul gras din molecula de acilcolină (vezi fig. 3.1).

Alte zone din structura protein-enzimei pot fixa micromolecule care diferă faţă de substrat, dar care modifică afinitatea enzimei faţă de substrat (crescând-o sau diminuând-o). Astfel de zone **alosterice** pot interveni în reglarea activităţii enzimelor. Asupra activatorilor şi inhibitorilor alosterici se va reveni.

Natura acizilor aminaţi din structura unei enzime are importanţă şi pentru **formarea unor complexe** cu rol în procesul de activare al enzimei respective. Aşa de exemplu protrombina

şi factorii coagulării VII, IX şi X, alcătuind aşa zisele proteaze serinice dependente de vitamina K, sunt dotaţi cu grupări gama-carboxiglutamice care nu intră în centrul activ al enzimelor menţionate, dar prin intermediul cărora se stabilesc punţi de calciu cu fosfolipidele şi se formează complexe cu proteazele activatoare, ceea ce duce la activarea protrombinei şi a celorlalţi zimogeni, prin proteoliză limitată.

Modificările conformaţionale induse, de exemplu, prin căldură sau prin agenţi oxidanţi, alterează structura proteinenzimei şi duc la pierderea activităţii enzimatice.

Aşa cum se vede din fig.3.1 şi 3.2 reacţia enzimatică poate fi concepută ca petrecându-se în două etape: formarea complexului enzimă-substrat, urmată de modificarea substratului şi desprinderea de pe enzimă a produşilor rezultaţi.

Zona activă a unei enzime nu mai este astăzi concepută ca un tipar strict preformat şi rigid, în care substratul se potriveşte precum cheia în broască. Există de fapt dovezi pentru teoria lui Koshland conform căreia zona activă a enzimei este dotată cu o oarecare plasticitate, astfel încât substratul poate induce modificări conformaţionale ale enzimei care devine mai receptivă faţă de substrat şi ajunge "să se potrivească" mai bine cu acesta (25).

3.1.2.1. SPECIFICITATEA UNEI REACŢII ENZIMATICE

Spre deosebire de catalizatorii neproteici care pot cataliza o mare varietate de reacţii chimice, enzimele prezintă **o specificitate de reacţie** şi **o specificitate de substrat**. Prin specificitatea de reacţie se înţelege capacitatea enzimelor de a cataliza doar un anumit tip de reacţie (oxidoreducere, transfer, hidroliză etc.). Specificitatea de substrat este mai relativă, în sensul că majoritatea enzimelor pot cataliza o anumită reacţie, acţionând asupra unor substrate înrudite structural. Aşa de exemplu colinesteraza serică hidrolizează o serie de esteri ai colinei (acetilcolină, benzoil-colină, butiril colină, acest din urmă ester fiind hidrolizat mai rapid şi reprezentând un aşa-zis substrat preferenţial).

De asemenea, plasmina scindează proteolitic nu numai fibrina ci şi alte proteine, ca de exemplu caseina, hemoglobina, factorii V şi VIII ai coagulării precum şi unii esteri sintetici ai argininei şi lizinei (9,25). Având însă o afinitate deosebită faţă de fibrină, aceasta va constitui substratul preferenţial.

Dacă specificitatea de substrat este oarecum relativă, **specificitatea de grup** este însă strictă, înţelegându-se prin aceasta că o anumită enzimă acţionează numai asupra unor grupări chimice particulare. Astfel chimotripsina hidrolizează doar legăturile peptidice în care gruparea carboxil este dată de un acid aminat aromatic (fenilalanină, tirozină), iar trombina acţionează numai asupra legăturilor peptidice dintre arginină şi glicocol.

Există şi o **specificitate optică**, anumite enzime acţionând doar asupra izomerilor D (de exemplu enzimele glicolitice) sau doar asupra izomerilor L (enzimele cu rol în metabolismul acizilor aminaţi). Se admite şi o **specificitate de coenzimă**. Aşa de exemplu oxidoreductazele acţionând în procesele de biosinteză utilizează $NADPH_2$ ca reducător, în timp ce enzimele oxidoreductoare cu rol în procesele de degradare utilizează de preferinţă NAD ca acceptor de hidrogen (1,25,27).

3.1.2.2.PRINCIPII DE DETERMINARE A UNEI ACTIVITĂŢI ENZIMATICE

Dozarea enzimelor se bazează pe determinarea activităţii lor, adică pe capacitatea de a cataliza o anumită reacţie. De fapt, în condiţii optimizate, viteza unei astfel de reacţii este proporţională cu cantitatea de enzimă prezentă în mediu. Ca urmare, exprimarea activităţii unei

enzime se face pe baza vitezei reacţiei catalizate (respectiv cantitatea de substrat modificat pe unitatea de timp).

Conform definiţiei date de Uniunea Internaţională de Biochimie, o unitate enzimatică (U) catalizează transformarea unui micromol de substrat în decurs de un minut în condiţiile standard recomandate. În laboratoarele clinice se obişnuieşte ca activitatea enzimatică să se raporteze la 1 litru sau la 1 ml ser sau plasmă. În consecinţă, exprimarea se poate face sub formă de U/l sau mU/ml, valorile fiind de altfel identice din punct de vedere numeric.

Se discută şi adoptarea noţiunii de "Katal" care ar reprezenta activitatea enzimatică capabilă să transforme un mol de substrat în decurs de o secundă (Kat = mol/sec) iar pentru a se evita utilizarea numerelor subunitare se recurge la subunităţi de Katal şi anume microkatal (µKat) sau nanokatal (nKat). Transformarea din U/l în uKat/l se face împărţind U/l la 60 (1 minut = 60 secunde). Aşa de exemplu o activitate ASAT de 16 U/l devine 0,266 µKat/l sau 266 nKat/l. Acest mod de exprimare nu este însă unanim acceptat şi în majoritatea revistelor de specialitate rezultatele sunt prezentate ca U/l.

În lipsa unor reactivi standard optimizaţi este însă iluzoriu să se vorbească de valori valabile pentru toate laboratoarele, întrucât mici modificări în tehnica de lucru produc mari variaţii ale valorilor activităţii enzimatice. Aşa de exemplu valorile normale ale lactatdehidrogenazei (LDH) determinate la 25°C oscilează între 120-240 U/l, în timp ce la 37°C aceste valori se situează între 260-500 U/l. De asemenea, activitatea colinesterazei serice determinate cu substrat de acetilcolină se situează la normali între 160-260 µmoli/ml/oră (2666-4333 U/l) în timp ce prin utilizarea ca substrat a butiriltiocolinei valorile normale oscilează între 4500 şi 11000 U/l. În cazul transaminazelor (aminotrasferazelor) limita superioară a valorilor normale determinată la 37°C cu reactivi optimizaţi se situează la 42 U/l pentru ASAT şi pentru ALAT, în timp ce cu reactivii preparaţi în majoritatea laboratoarelor din ţară aceste valori normale nu trebuie să depăşească 16 U/l. Şi mai mari sunt diferenţele între valorile normale ale fosfatazei alcaline, care cu metoda clasică Bessey-Lowry nu depăşesc 48 U/l, iar cu reactivi având tampon de trietanolamină se situează până la 300U/l la adult şi până la 600 U/l la copii.

Din motivele arătate mai sus este recomandabil ca, până la introducerea de reactivi optimizaţi în toate laboratoarele din ţară, fiecare laborator clinic să-şi stabilească valorile normale în condiţiile de lucru şi cu reactivii care îi sunt accesibili.

Din aceleaşi motive, pe parcursul acestui capitol ne vom feri de a exprima variaţiile patologice sub formă de unităţi/litru ci doar ca multipli ai limitei superioare a normalului sau ca procente din media valorilor normale, iar în cazul când se prezintă U/l se va preciza metoda utilizată şi valorile normale ale metodei. La finele acestui volum se prezintă totuşi un tabel orientativ privind valorile normale ale unor enzime utilizându-se reactivi optimizaţi la 37°C.

3.1.2.3. FACTORI DE CARE DEPINDE VITEZA UNEI REACŢII ENZIMATICE

Principalii factori de care depinde viteza unei reacţii enzimatice sunt temperatura, valoarea de pH, concentraţia substratului şi a coenzimelor precum şi de eventuala intervenţie a unor activatori sau inhibitori.

Efecte dependente de pH se datorează modificărilor stării de ionizare a moleculei de proteinenzimă şi implicit asupra capacităţii de fixare a substratului în centrul activ al enzimei. Fiecare enzimă are un pH optim la care reacţia catalizată decurge cu viteză maximă. Pentru majoritatea enzimelor acest pH este apropiat de cel fiziologic situându-se între 6,9 şi 7,7. Dacă însă reacţia catalizată decurge cu eliberarea de compuşi acizi (de exemplu hidroliza trigliceridelor sau a acilcolinei) se recomandă tamponarea ionilor de hidrogen şi deci folosirea unui tampon alcalin între pH 8 şi pH 9. De menţionat că activitatea fenoloxidazică a ceruloplasminei decurge în condiţii optime la pH 5,5, iar cea a pepsinei la un pH mult mai acid, corespunzând sucului gastric în perioada de stimulare a secreţiei.

Efectul temperaturii se vădeşte prin accelerarea reacţiilor enzimatice odată cu creşterea temperaturii. Peste o anumită limită, denumită temperatură critică şi care variază de la

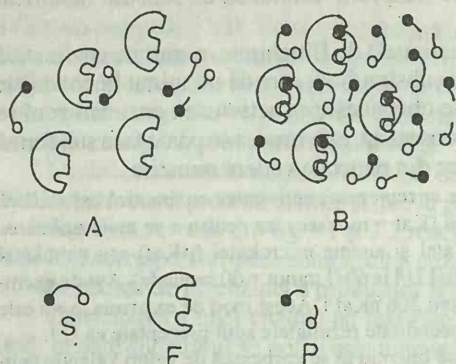


Fig.3.3. Reprezentare schematică a unor diferite rapoarte între concentraţia enzimei (E) şi cea a substratului (S). A. La concentraţii joase de substrat doar o parte a moleculelor de enzimă fixează substrat iar reacţia enzimatică decurge neeconomic. B. La concentraţii ridicate de substrat toate moleculele de enzimă sunt combinate cu substratul, reacţia decurgând cu viteză maximală şi rezultând cantităţi sporite de produşi de reacţie (P). După Rodwell (25) cu mici modificări.

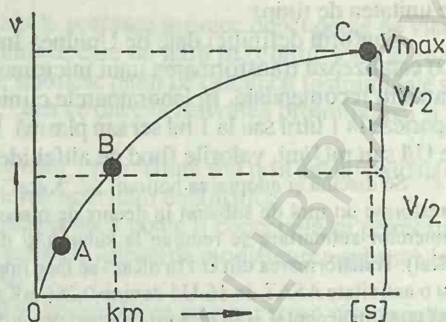


Fig.3.4. Relaţia matematică dintre concentraţia substratului (S) pe abscisă şi viteza reacţiei enzimatice (v) pe ordonată. Se observă o creştere progresivă a v de la A la C, odată cu creşterea concentraţiei substratului, până la atingerea unei viteze maximale (V), după care o creştere în continuare a substratului nu mai accelerează viteza de reacţie. Punctul B de pe curbă corespunde unei viteze egale cu jumătate din viteza maximală (V/2). Ducând o perpendiculară din punctul B pe abscisă se poate afla constanta Michaelis (Km) reprezentând concentraţia de substrat la care v = V/2.

enzimă la enzimă, componenta proteică a sistemului enzimatic se denaturează şi activitatea enzimatică încetează.

Efectul concentraţiei substratului este ilustrat în fig. 3.3. şi fig.3.4. Se poate vedea că şansele de formare a complexelor enzimă-substrat sunt reduse dacă concentraţiile de substrat sunt joase şi că formarea complexelor amintite creşte progresiv odată cu creşterea concentraţiei substratului respectiv. Implicit are loc o accelerare a reacţiei enzimatice care decurge conform ecuaţiei Michaelis-Menten:

$$v = \frac{V\,[S]}{Km + [S]}$$

în care: v = viteza de reacţie; V = viteza maximă la care poate ajunge reacţia; [S] = concentraţia substratului; Km = constanta Michaelis (vezi fig.3.4.)

Pentru a transforma curba hiperbolică a relaţiei dintre v şi [S] într-o dreaptă s-a convenit ca aceşti parametri să fie exprimaţi prin valorile lor reciproce, adică 1/v şi 1/[S] ajungându-se astfel la ecuaţia:

$$\frac{1}{v} = \frac{Km + [S]}{V\,[S]} \quad sau \quad \frac{1}{v} = \frac{Km}{V} \times \frac{1}{[S]} + \frac{[S]}{V\,[S]}$$

care prin simplificare devine:

$$\frac{1}{v} = \frac{Km}{V} x \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V}$$

Avându-se în vedere că doar v şi [S] sunt variabile, în timp ce Km şi V sunt constante pentru o anumită pereche enzimă-substrat, ecuaţia de mai sus este de tipul Y = ax + b care dă o reprezentare grafică lineară, aşa-zisa reprezentare dublu reciprocă imaginată de Lineweaver şi Burk (vezi fig.3.5).

Pe baza acestei relaţii şi efectuându-se doar 4-5 determinări ale activităţii enzimatice, la concentraţii diferite de substrat, se poate calcula constanta Michaelis (Km), adică acea concentraţie de substrat la care viteza reacţiei enzimatice decurge cu jumătate din viteza maximă (V/2). Pentru prepararea reactivilor utilizaţi la determinarea activităţilor enzimatice se recomandă o concentraţie de substrat de cel puţin zece ori mai ridicată decât Km. De notat că o valoare crescută a Km indică o afinitate redusă a enzimei faţă de substrat sau prezenţa unui inhibitor competitiv (vezi fig.3.7).

Rolul coenzimelor devine evident în cazul unor enzime care îşi exercită efectul lor catalitic doar în prezenţa unor anumite molecule organice neproteice (termostabile şi dializabile). Aceste molecule denumite coenzime sunt necesare pentru activitatea oxidoreductazelor, transferazelor, izomerazelor şi ligazelor (clasele 1,2,5,6) în timp ce hidrolazele şi liazele (clasele 3 şi 4) nu necesită coenzime.

Coenzimele având, de cele mai multe ori, în compoziţia lor vitamine din grupul B pot fi împărţite în două mari grupe:

1. **Coenzime implicate în procesele de oxidoreducere** (transfer de H^+), grupă în care se includ nicotinadenindinucleotidul (NAD) şi o formă fosforilată a acestuia (NADP) conţinând în structura lor vitamina PP, flavinmononucleotidul (FMN) şi flavinadenindinucleotidul (FAD), ambele conţinând în structuralor riboflavină (vit.B_2). Tot în această grupă se includ acidul lipoic (acid 6-8 ditiooctanoic) care prin grupările SH poate deveni donator sau acceptor de protoni, precum şi coenzima Q, o chinonă care intervine în procesele de fosforilare oxidativă.

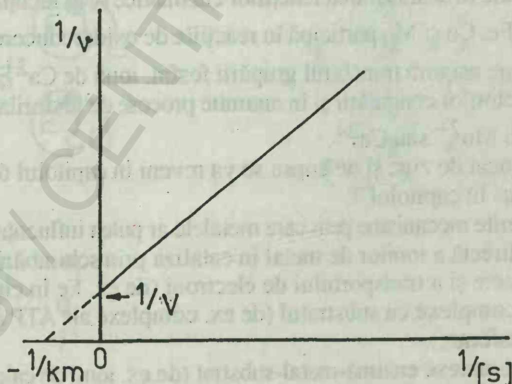
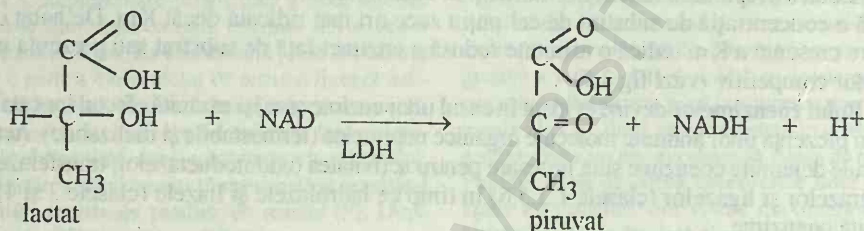


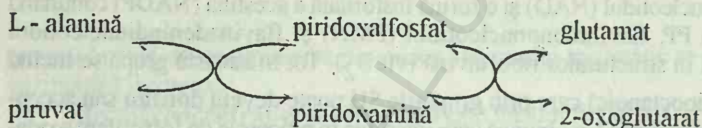
Fig.3.5. Reprezentarea dublu reciprocă (Lineweaver-Burk) a relaţiei dintre 1/[S] (pe abscisă) şi 1/v (pe ordonată). Punctul în care dreapta întretaie ordonata indică 1/V, iar locul de întretăiere al abscisei reprezintă valoarea - 1/Km.

2. **Coenzime implicate în transferul altor grupe decât H^+**, această grupă incluzând coenzime cu rol în transferul de grupări fosfat (de ex. ATP), vitamina B1 cu rol în reacţia de decarboxilare a acidului piruvic şi vitamina B_6 (piridoxalfosfat) cu rol în reacţiile de transfer a grupărilor amino (aminotransferaze). Tot în această grupă se includ coenzima A conţinând în structura ei acidul pantotenic şi intervenind în transferul de radicali acetil, precum şi acidul folic şi vitamina B_{12} cu rol în transferul de grupări cu un atom de carbon cum ar fi grupul formil (-CHO), formiat (HCOOH) sau hidroximetil ($-CH_2OH$).

Pentru înţelegerea mecanismului de acţiune al coenzimelor este important de reamintit că aceste substanţe pot fi considerate ca un al doilea substrat, respectiv cosubstrat, suferind modificări concomitente cu substratul. Aşa de exemplu, în reacţiile de oxidoreducere o moleculă de substrat se oxidează (se dehidrogenează), în timp ce o moleculă de coenzimă se reduce (se hidrogenează).



Pe de altă parte, în reacţiile de aminotransferare, piridoxalfosfatul (vit.B_6) acţionează ca un transportor intermediar de grupări amino între doi aminoacizi:



Rolul unor metale în desfăşurarea reacţiilor enzimatice se evidenţiază pe mai multe planuri. Aşa de exemplu Fe, Cu şi Mo participă în reacţiile de oxidoreducere, ionii de Mg^{2+} sunt necesari în reacţiile care asigură transferul grupării fosfat, ionii de Ca^{2+} sunt necesari în procesele de activare a factorilor coagulării şi în anumite procese de fosforilare, iar o serie de peptidaze sunt activate de Mn^{2+} sau Ca^{2+}.

Asupra rolului jucat de zinc şi de cupru se va reveni în capitolul 6 iar rolul calciului şi magneziului este expus în capitolul 7.

S-au sugerat diferite mecanisme prin care metalele ar putea influenţa reacţiile enzimatice.

a. Participarea directă a ionilor de metal în cataliza prin schimbări de valenţă în cursul reacţiei de oxidoreducere şi a transportului de electroni (de ex. Fe în citocromi).

b. Formarea de complexe cu substratul (de ex. complexe ale ATP cu ionii de magneziu în reacţia de fosfotransferare).

c. Formarea de complexe enzimă-metal-substrat (de.ex. ionii de calciu) asigură formarea unui complex între fosfolipide, factorul Xa (enzima activatoare) şi protrombina (zimogenul activabil), care în cazul de faţă joacă rol de substrat.

d. Inducerea unor modificări conformaţionale care duc la activarea enzimei sau îi menţin o structură activă (de ex. ionii de Zn în alcooldehidrogenaza hepatică).

Se pare deci că efectele carenţei de oligoelemente, asupra cărora se insistă în literatura de specialitate din ultimii ani, se exercită tocmai prin anomalii în modularea reacţiilor enzimatice (vezi capitolele 6 şi 7).

Metalele pot exercita însă şi efecte negative asupra enzimelor. Aşa de exemplu, grupările SH din centrul activ al transglutaminazei (factorul XIII al coagulării) pot fi blocate de către metale grele, cum ar fi Hg, ducând la inactivarea consecutivă a enzimei.

Efectul inhibitorilor de enzime constituie o problemă de o deosebită importanţă pentru reglarea funcţiilor organismului şi pentru înţelegerea mecanismului de acţiune al unor medicamente.

Din punct de vedere al mecanismului de acţiune toţi inhibitorii (fiziologici şi nefiziologici) pot fi împărţiţi în două mari grupe: inhibitori competitivi şi inhibitori necompetitivi.

O altă modalitate de clasificare a inhibitorilor de enzime se bazează pe locul de acţiune, distingându-se inhibitori care acţionează asupra centrului activ al enzimei şi inhibitori alosterici, care afectează reacţia enzimatică acţionând într-o altă zonă a moleculei de enzimă.

Inhibitorii competitivi sunt substanţe cu structură chimică asemănătoare substratului (analogi chimici ai substratului) şi concurează cu acesta pentru ocuparea centrului activ al enzimei (zona catalitică). Ca urmare a competiţiei între substrat şi inhibitorul competitiv se formează complexe enzimă-inhibitor competitiv (EI) în dauna formării de complexe enzimă-substrat (ES), ceea ce duce la scăderea activităţii enzimatice. Crescându-se însă mult concentraţia substratului (S) şi menţinându-se constant nivelul inhibitorului (I) se amplifică şansele formării complexelor ES, iar efectul inhibitorului scade (vezi fig.3.6).

Aşa cum se poate vedea din fig. 3.7. prezenţa unui inhibitor competitiv se exprimă din punct de vedere cantitativ prin creşterea valorii Km, ceea ce înseamnă că pentru atingerea jumătăţii din viteza maximală (V/2) a reacţiei enzimatice este nevoie de mai mult substrat decât în lipsa inhibitorului competitiv.

Există numeroase exemple de inhibitori competitivi. Astfel, sulfamidele sunt analogi chimici ai acidului p-aminobenzoic (vezi fig.3.8) şi inhibă sistemele enzimatice ale microbilor care

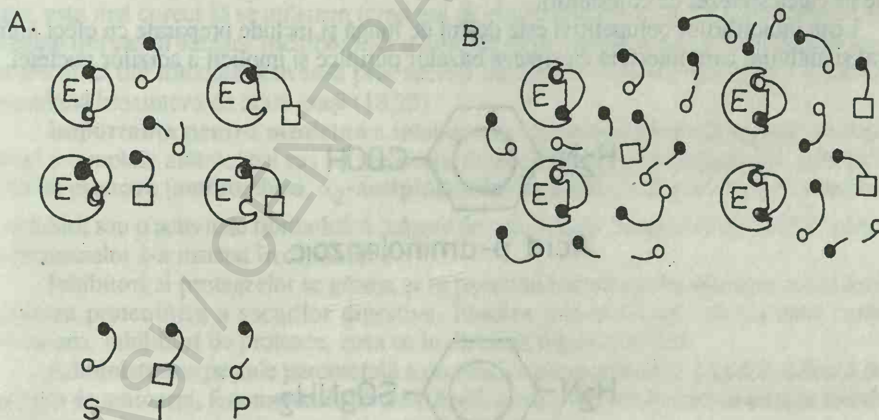


Fig. 3.6. Competiţia dintre substrat (S) şi inhibitorul competitiv (I) pentru centrul activ al enzimei (E). A. În cazul unei concentraţii reduse de substrat, şansele inhibitorului (cu structură oarecum similară substratului) de a ocupa centrul activ al enzimei sunt mult facilitate.
B. Şansele inhibitorului competitiv se reduc mult prin creşterea concentraţiei substratului astfel încât reacţia enzimatică nu mai este frânată rezultând cantităţi importante de produşi de reacţie (P).

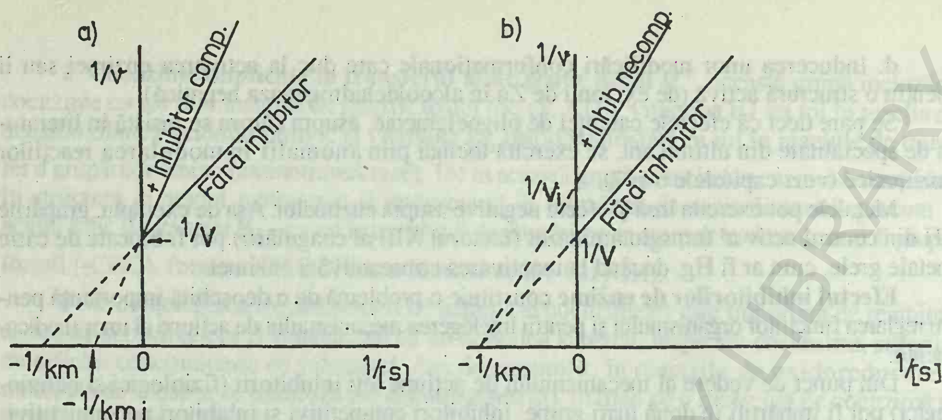
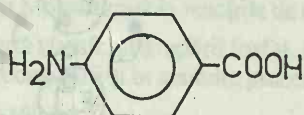


Fig.3.7. Reprezentarea dublu reciprocă a relației dintre concentrația substratului și viteza unei reacții enzimatice în absența și în prezența unor inhibitori. a) Inhibitorul competitiv nu modifică viteza maximă de reacție, dar 1/Km are o valoare mai mică (respectiv Km are o valoare mai mare) în prezența unui astfel de inhibitor. b) Inhibitorul necompetitiv nu modifică valoarea Km dar reduce viteza maximală $1/V_i > 1/V$ (respectiv $V_i < V$). Cu alte cuvinte creșterea concentrației substratului nu diminuă efectele unui inhibitor necompetitiv.

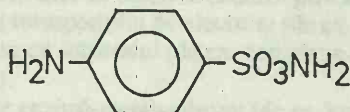
utilizează p-aminobenzoat pentru formarea de acid folic. De asemenea, anticoagulantele orale de tip cumarinic au o structură analoagă vitaminei K și astfel inhibă sistemele enzimatice dependente de vitamina K (carboxilaza) și implicit reduc formarea de grupări gama-carboxiglutamice din factorii II, VII, IX și X ai coagulării. De notat că în lipsa grupărilor gama-carboxiglutamice fixatoare de calciu, factorii coagulării mai sus amintiți nu sunt activabili.

Așa cum s-a arătat în capitolul 1, scăderea sintezei de colesterol în urma tratamentului cu inhibitori ai HMG-CoA reductazei se explică prin aceea că astfel de inhibitori (Lovastatin, Simvastatin) au o structură similară cu HMG-CoA, subtratul HMG-CoA reductazei (enzima cheie pe calea sintezei de colesterol).

Lista inhibitorilor competitivi este destul de lungă și include preparate cu efect antitumoral și antiviral care interferă cu sinteza bazelor purinice și implicit a acizilor nucleici.



Acid p-aminolenzoic



Sulfamidă

Fig. 3.8. Analogia între structura chimică a acidului paraaminobenzoic și cea a unei sulfamide.

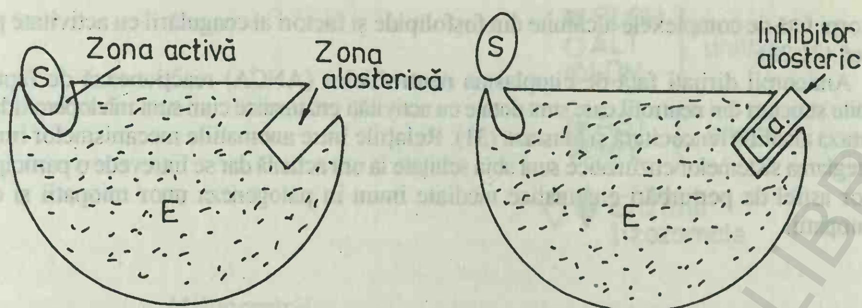


Fig. 3.9. Reprezentare schematică a inhibiției alosterice. Pătrunderea inhibitorului alosteric (i-a) în zona alosterică produce modificări conformaționale ale enzimei reducându-i afinitatea față de substratul S.

Inhibitorii necompetitivi nu au o structură similară substratului, iar efectul lor nu diminuă prin creșterea concentrației substratului. Ca urmare, valoarea Km nu este influențată, în timp ce viteza maximală (V max) este mult diminuată (vezi fig.3.7). Se cunosc inhibitori necompetitivi reversibili care se pot desprinde de pe enzimă și inhibitori necompetitivi ireversibili care constituie adevărate "otrăvuri ale enzimelor". Între aceștia din urmă se numără iodoacetamida, săruri ale metalelor grele (Ag^{2+}, Hg^{2+}) și o serie de agenți oxidanți. De notat că aspirina este un inhibitor necompetitiv ireversibil al ciclooxigenazei din plăcuțele sanguine.

Inhibitorii alosterici afectează reacțiile enzimatice fixându-se într-o altă zonă a enzimei, diferită de centrul activ. Ca urmare a fixării inhibitorului în așa-zisa zonă alosterică (alos alt; stereos-spațiu) se produc modificări conformaționale ale enzimei care îi reduc afinitatea față de substrat (vezi fig.3.9) și implicit încetinesc reacția enzimatică.

Întrucât diverși modificatori ai reacțiilor enzimatice acționând pe zona alosterică pot duce nu doar la inhibarea enzimei dar și la activarea acesteia, crescându-i afinitatea față de substrat, este mai corect să se utilizeze termenul de **efectori alosterici**. Așa de exemplu citratul, rezultat din ciclul acizilor tricarboxilici inhibă alosteric fosfofructokinaza, limitând procesul de glicoliză dar totodată activează prin același mecanism alosteric acetil-CoA carboxilaza stimulând biosinteza de acizi grași (18,25).

Importanța pentru medicină a inhibitorilor de enzime prezintă aspecte multiple. Pe lângă exemplele arătate mai sus cu implicații farmacologice, este de subliniat rolul inhibitorilor de proteaze (antitrombina, α_2-antiplasmina) care previn o activare intravasculară a coagulării sau o activitate fibrinolitică scăpate de sub control. Asupra inhibitorilor plasmatici ai proteazelor s-a insistat în capitolul 2.

Inhibitori ai proteazelor se găsesc și în parazitul intestinal Ascaris care astfel rezistă la acțiunea proteolitica a sucurilor digestive. Fasolea soia și albușul de ou crud conțin, de asemenea, inhibitori de proteaze, ceea ce le diminuă digestibilitatea.

Administrarea pe cale parenterală a enzimelor provenite de la o specie diferită duce la apariția de anticorpi, fenomen care limitează utilizarea L-asparaginazei în terapia leucemiilor sau a streptokinazei ca activator al sistemului fibrinolitic.

S-a descris și posibilitatea formării de **autoanticorpi față de unele enzime**. De exemplu modificări suferite de factorul XIII la pacienți tratați cu izoniazidă pot duce la apariția de anticorpi față de acestă transglutaminază, iar în cursul lupusului eritematos diseminat pot apare

anticorpi faţă de complexele alcătuite din fosfolipide şi factori ai coagulării cu activitate proteazică (21,28).

Anticorpii dirijaţi faţă de citoplasma neutrofilelor (ANCA) reacţionează de fapt cu anumite structuri din neutrofil care sunt dotate cu activităţi enzimatice cum sunt mieloperoxidaza. fosfataza alcalină leucocitară şi elastaza (31). Relaţiile între anomaliile mecanismelor imune şi dereglarea sistemelor enzimatice sunt abia schiţate la ora actuală dar se întrevede o participare a unor astfel de perturbări enzimatice mediate imun în patogeneza unor miopatii şi cardiomiopatii.

3.2. ACTIVITATEA ENZIMATICĂ ÎN CELULELE VII

Activitatea enzimatică din celule prezintă o serie de particularităţi care diferă de activitatea enzimatică "in vitro". Astfel, starea de echilibru a unei reacţii enzimatice urmărită "in vitro" şi reprezentată prin formula $E + S \Leftrightarrow ES \Leftrightarrow E + P$ nu se poate aplica "in vivo", întrucât produsul de reacţie P este mereu îndepărtat din jurul enzimei care poate astfel capta noi molecule de substrat (S). De multe ori produsul unei reacţii enzimatice (P) devine substrat într-o altă reacţie enzimatică şi aşa mai departe, datorită unei anumite orientări spaţiale a enzimelor care asigură un proces metabolic cu mai multe secvenţe. Pentru ilustrare este suficient de reamintit secvenţele enzimatice ale sintezei de uree, etapele enzimatice ale glicolizei continuate cu ciclul acizilor tricarboxilici, complexele multienzimatice care intervin în sinteza şi degradarea acizilor graşi şi etapele enzimatice ale sintezei de colesterol.

Este de asemenea important de precizat că reacţiile enzimatice din celulele vii pot fi modulate prin intervenţia unor mecanisme de reglare dependente de hormoni sau sub acţiunea unor metaboliţi celulari specifici, cu efecte locale (prostaglandinele, AMP-ciclic, derivaţi de fosfatidilinositol). Creşterea sau limitarea unei activităţi enzimatice intracelulare se poate realiza fie prin modificarea eficienţei fiecărei molecule de enzimă, fie prin modificarea vitezei de sinteză sau de degradare a moleculelor de enzimă cu implicaţii asupra numărului de enzime eficiente.

Pe baza acestor considerente este necesară o scurtă trecere în revistă a datelor din literatură privind distribuţia intracelulara a enzimelor şi a achiziţiilor recente privind mecanismele de reglare a activităţilor enzimatice în organism.

3.2.1. DISTRIBUŢIA INTRACELULARĂ A ENZIMELOR

Cunoaşterea localizării enzimelor la nivelul diferitelor organite celulare este necesară nu numai pentru o mai bună înţelegere a modului în care sunt dirijate procesele metabolice dar şi pentru interpretarea unor rezultate furnizate de laboratorul clinic. De fapt, creşterea în ser a unor enzime provenite din mitocondrii sugerează că leziunea celulară este mai severă decât în cazul în care creşterea se limitează la enzime citoplasmatice ieşite din celulă datorită creşterii permeabilităţii membranei celulare. S-a putut demonstra că enzimele care intervin în glicoliză sunt localizate în citoplasmă, pe când enzimele cu rol în ciclul acizilor tricarboxilici, enzimele lanţului respirator şi cele implicate în fosforilarea oxidativă se află la nivelul mitocondriilor. Tot în mitocondrii se găseşte şi glutamatdehidrogeneza (GLDH).

Pentru practica medicală este important de precizat că alaninaminotransferaza (ALAT) se găseşte doar în citoplasmă (enzimă uniloculară) pe când asparat-aminotransferaza (ASAT) şi malatdehidrogenaza (MDH) se află atât în citoplasmă cât şi în mitocondrii. Tehnici

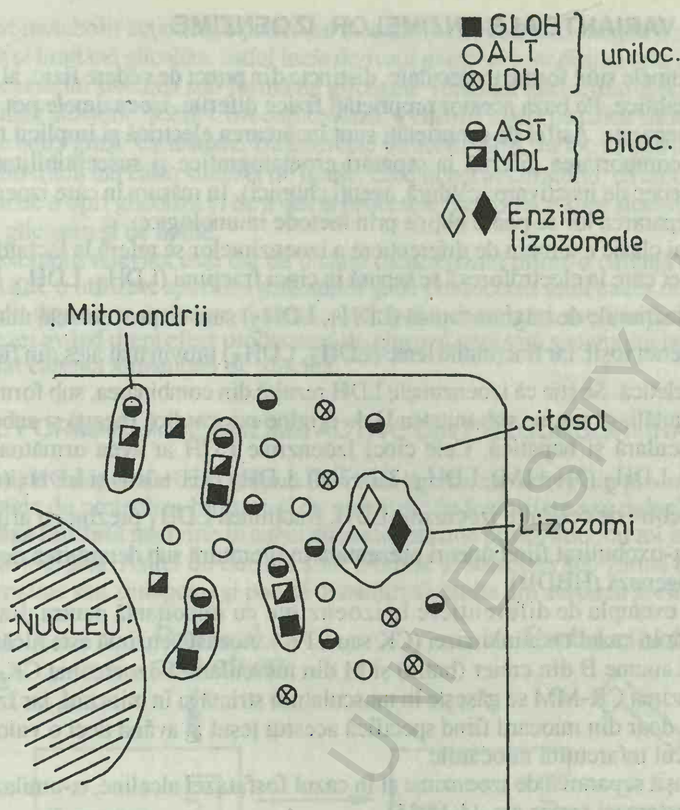


Fig. 3.10. Reprezentarea schematică a localizărilor intracelulare ale enzimelor.

imunochimice au putut chiar diferenţia între ASAT citoplasmatic (c-ASAT) şi enzima mitocondrială (mASAT) creşterea în ser a acesteia din urmă indicând o leziune mai severă a celulelor (2).

La nivelul lizozomilor se găsesc enzime cu rol în degradarea lipidelor, proteinelor şi acizilor nucleici (colesterilesterhidrolază acidă, dezoxiribonuclează, fosfatază acidă, proteaze, colagenaze, beta-glicuronidază etc) (vezi fig.3.10).

Pentru interpretarea modificărilor survenite în privinţa activităţii serice a enzimelor, este important de precizat că echipamentul enzimatic al celulelor diferă de la organ la organ. Aşa de exemplu ASAT se află mai ales în miocard şi ficat precum şi în cantităţi cu ceva mai reduse în fibra musculară striată, în timp ce ALAT se găseşte mai ales în ficat. Creatinkinaza (CK) provine din musculatura scheletică şi din miocard, iar LDH poate proveni din ficat, miocard şi musculatura scheletică. În aceeaşi ordine de idei trebuie arătat că amilaza serică poate avea ca sursă atât pancreasul cât şi glandele salivare, iar fosfataza alcalină creşte în ser atât în unele boli osoase cât şi în afecţiuni hepatice. Provenienţa unei activităţi enzimatice în ser poate fi însă precizată prin analizarea componenţei izoenzimelor (1,18,24-27).

3.2.2. VARIANTE ALE ENZIMELOR. IZOENZIME

Izoenzimele sunt forme moleculare, distincte din punct de vedere fizic, al unei aceleiaşi activităţi catalitice. Pe baza acestor proprietăţi fizice diferite, izoenzimele pot fi diferenţiate şi eventual separate. Astfel de proprietăţi sunt încărcarea electrică şi implicit migrarea electroforetică, comportarea diferită la separări cromatografice şi susceptibilitatea diferită la diverse procedee de inactivare (căldură, agenţi chimici). În măsura în care izoenzimele diferă antigenic, separarea lor se poate obţine prin metode imunologice.

Cel mai clasic exemplu de diferenţiere a izoenzimelor se referă la lactatdehidrogenaza (LDH) din ser care la electroforeză se separă în cinci fracţiuni (LDH_1, LDH_2, LDH_3, LDH_4 şi LDH_5). Fracţiunile de migrare rapidă (LDH_1, LDH_2) sunt de provenienţă miocardică şi din elementele seriei roşii, iar fracţiunile lente (LDH_4, LDH_5) provin mai ales din ficat şi din musculatura scheletică. Se ştie că izoenzimele LDH rezultă din combinarea, sub formă de tetramer, a două subunităţi, şi anume subunitatea H de origine miocardică (heart) şi subunitatea M de origine musculară şi hepatică. Cele cinci izoenzime LDH ar avea următoarea alcătuire: LDH_1, (4H), LDH_2 (3H +1M), LDH_3 (2H +2M), LDH_4 (1H + 3M) şi LDH_5 (4M). De notat că spre deosebire de celelalte izoenzime LDH, fracţiunea LDH_1 prezintă o afinitate particulară pentru α-oxobutirat fiind uneori prezentată în literatură sub denumirea de α-hidroxibutirat dehidrogenază (HBDH).

Un alt exemplu de diferenţiere în izoenzime cu importanţă pentru diagnosticul de laborator este în cazul creatinkinazei (CK sau CPK). Această enzimă este alcătuită din două subunităţi şi anume B din creier (brain) şi M din musculatură. Izoenzima CK-BB se află în creier, izoenzima CK-MM se găseşte în musculatura striată şi în miocard, iar izoenzima CK-MB provine doar din miocard fiind specifică acestui ţesut şi având deci o valoare deosebită în diagnosticul infarctului miocardic.

S-a reuşit separarea de izoenzime şi în cazul fosfatazei alcaline, α-amilazei, fosfatazei acide, colinesterazei serice etc. (1,18,25).

3.2.3. REGLAREA ACTIVITĂŢILOR ENZIMATICE

Se cunoasc până în prezent trei mecanisme principale prin care activitatea enzimelor din organism poate fi modulată în funcţie de necesităţi: un prim mecanism este cel alosteric menţionat anterior, un al doilea mecanism general constă din posibilitatea trecerii din formă inactivă de zimogen în enzimă activă; cel de al treilea mecanism depinde de capacitatea celulelor de a regla numărul de molecule dotate cu proprietăţi enzimatice, fie prin modificarea vitezei de sinteză a enzimelor, fie prin modificări ale gradului de inactivare sau degradare a acestora . La aceste mecanisme cu caracter general se mai poate adăuga posibilitatea de reglare a concentraţiei inhibitorilor proteazelor plasmatice implicate în coagulare şi fibrinoliză, precum şi de inhibare a elastazei provenite din leucocite (vezi cap.2).

3.2.3.1. EFECTORII ALOSTERICI

Aceşti reglatori sunt, de regulă, produşi de metabolism care sunt în măsură să modifice afinitatea enzimelor faţă de substratele lor (vezi fig.3.9). De multe ori efectorii alosterici intervin pe mai multe căi metabolice, fie inhibând, fie activând sistemele enzimatice. Aşa de exemplu, în cazul unei utilizări sporite a hidraţilor de carbon pe calea glicolizei se formează un exces de citrat. Acest metabolit acţionează printr-un mecanism de feed-back negativ, inhibând fos-

de citrat. Acest metabolit acţionează printr-un mecanism de feed-back negativ, inhibând fosfofructokinaza şi limitând glicoliza, astfel încât derivaţii glucozei sunt dirijaţi spre alte căi metabolice, ca de exemplu stocarea sub formă de glicogen. Totodată însă, citratul activează, prin acelaşi mecanism alosteric, acetil CoA carboxilaza, o enzimă cheie pe calea sintezei extramitocondriale de acizi graşi. Ca urmare, fragmentele de acetil-CoA, în loc să pătrundă în ciclul acizilor tricarboxilici, iau calea sintezei de lipide. Efectul net al citratului, ca efector alosteric, este deci acela de a opri glicoliza şi de a devia procesele metabolice spre stocarea de energie sub formă de glicogen şi de lipide.

Un alt exemplu relevant este dat de o stare caracterizată printr-o carenţă de hidraţi de carbon, urmată de o utilizare sporită a grăsimilor şi de producerea unui exces de acetil-CoA. Acest metabolit devine un activator alosteric al piruvatcarboxilazei, o enzimă cheie pe calea gluconeogenezei având drept efect producerea de glucoză necesară sistemului nervos şi compensând parţial carenţa alimentară de glucide.

3.2.3.2. FORMAREA DE ENZIME ACTIVE DIN PRECURSORI INACTIVI

Principalele mecanisme care asigură formarea de enzime active din precursori inactivi sunt reprezentate de proteoliza limitată şi de procesele de fosforilare sau defosforilare.

Proteoliza limitată intervine în cazul anumitor enzime proteolitice cu rol în digestie sau implicate în hemostază. Astfel de enzime sunt produse şi secretate sub formă de precursori inactivi (proenzime sau zimogeni) şi poartă denumiri alcătuite din ataşarea prefixelor pre sau

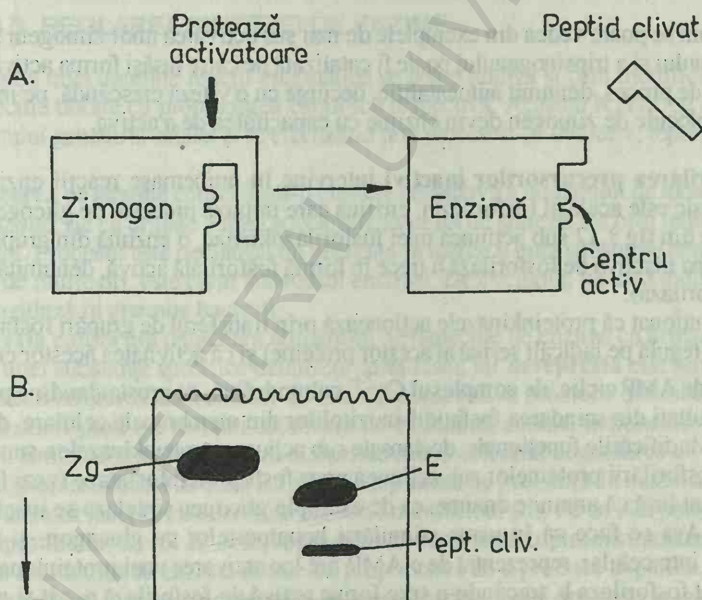
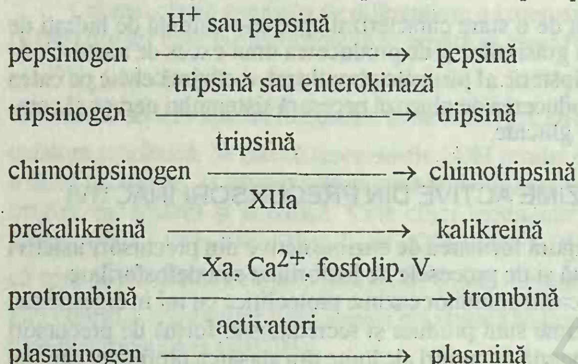


Fig. 3.11. Activarea zimogenilor prin proteoliză limitată.
A. Sub acţiunea unei proteaze activatoare are loc clivarea unui peptid din molecula de zimogen, "demascându-se" astfel centrul activ al enzimei şi respectiv transformarea zimogenului în enzimă.
B. Electroforeza în gel de poliacrilamidă conţinând dodecilsulfat de sodiu, permite separarea moleculelor proteice şi peptidice în funcţie de greutatea lor moleculară. Se poate astfel demonstra desprinderea peptidului de clivare (pept.cliv) şi reducerea greutăţii moleculare a enzimei (E) faţă de cea a zimogenului (Zg) din care provine.

pro, sau respectiv a sufixului ogen, la numele enzimei. Conversia zimogenilor în enzime active este catalizată de enzime proteolitice care prin clivarea unui fragment peptidic duc la "demascarea" centrului activ al enzimei. Este evident că prin îndepărtarea peptidelor clivate greutatea moleculară (GM) a enzimei este mai redusă decât a zimogenului precursor (Fig.3.11). Aşa de exemplu pepsinogenul are o GM de 42000 în timp ce pepsina are abia 35400, iar plasminogenul cu GM de 92000 trece sub acţiunea activatorilor săi în plasmină cu o greutate moleculară de 83000.

Redăm mai jos câteva exemple de activare prin proteoliză limitată:



Aşa cum se poate vedea din exemplele de mai sus activarea unor zimogeni şi în special a pepsinogenului şi a tripsinogenului poate fi catalizată de către însăşi forma activă a enzimei, iar un astfel de proces, denumit autocatalitic, decurge cu o viteză crescândă, pe măsură ce tot mai mult molecule de zimogen devin enzime cu capacitatea de a activa.

Fosforilarea precursorilor inactivi intervine în numeroase reacţii enzimatice. Un exemplu clasic este acela al fosforilazei, enzima care iniţiază procesul de glicogenoliză. Aşa cum se vede din fig.3.12 sub acţiunea unei fosforilazokinaze, o enzimă din grupa proteinkinazelor, forma inactivă de fosforilază b trece în formă fosforilată activă, denumită fosforilaza a (fosfofosforilaza).

De menţionat că proteinkinazele acţionează prin transferul de grupări fosfat pe diverse proteine (de regulă pe radicali serină ai acestor proteine) şi că activitatea acestor enzime poate fi modulată de AMP ciclic, de complexul Ca^{2+}-calmodulină, de prostaglandine precum şi de produşii rezultaţi din scindarea fosfatidil-inozitolilor din membranele celulare, de către fosfolipaza C. Modificările funcţionale, declanşate sub acţiunea proteinkinazelor sunt tranzitorii, datorită defosforilării proteinelor sub acţiunea unor fosfoproteinfosfataze (vezi fig.3.12).

De notat însă că anumite enzime, ca de exemplu glicogen sintetaza se inactivează prin fosforilare. Aşa se face că în urma stimulării hepatocitelor cu glucagon, şi a eliberării mesagerului intracelular, reprezentat de c-AMP, are loc activarea unei proteinkinaze care fosforilează atât fosforilaza b, trecându-o spre forma activă de fosforilază a, cât şi glicogensintetaza care devine inactivă. Rezultanta finală a acestor procese este o creştere marcată a eliberării de glucoză din depozitele de glicogen (25).

Se ştie astăzi că între stimulul hormonal şi procesele enzimatice mai sus amintite se interpun receptori celulari pentru hormoni precum şi aşa-zisele proteine G (17). Descrierea detaliată a transmiterii stimulilor la efectori ar depăşi însă scopul prezentului capitol.

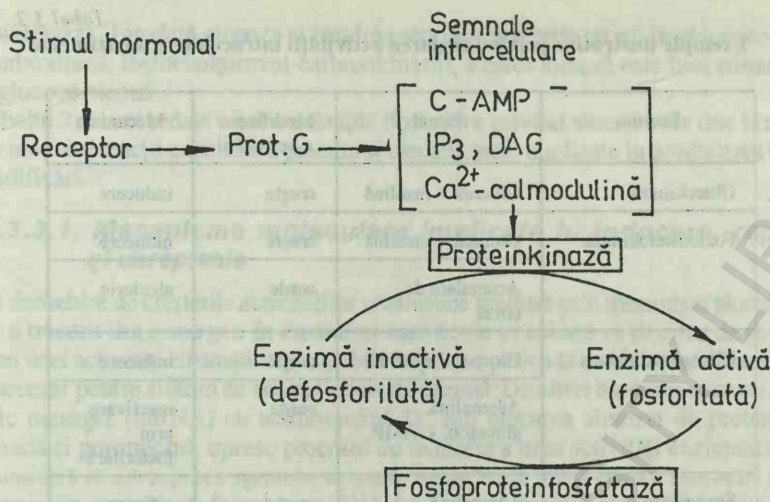


Fig.3.12. Activarea enzimelor prin fosforilarea precursorilor inactivi.

3.2.3.3. REGLAREA SINTEZEI DE ENZIME

Reglarea unei anumite reacţii enzimatice se poate realiza şi prin modificarea numărului de molecule dotate cu proprietatea catalitică respectivă. Această reglare se află sub controlul aparatului genetic al celulei şi se efectuează prin procesele de inducere, represie şi derepresie.

Inducerea de enzime constă dintr-o creştere adaptativă a numărului de molecule ale unei anumite enzime, fie ca urmare a unei accelerări a vitezei de sinteză, fie prin reducerea vitezei de degradare. Procesul este declanşat de prezenţa în mediu a unei substanţe denumită inductor şi care, de multe ori, este chiar substratul enzimei. De exemplu, lactoza induce sinteza de betagalactozidază în anumite bacterii.

Represia constă din reducerea numărului de molecule de enzimă ca urmare a prezenţei în mediu a unei substanţe specifice denumită corepresor, iar **derepresia** este termenul folosit pentru a indica creşterea moleculelor de enzimă consecutivă scoaterii din mediu a corepresorului. Adeseori produşii reacţiei catalizate de o anumită enzimă acţionează în calitate de corepresori, limitând sinteza respectivei enzime sau accelerând degradarea ei. De exemplu, sinteza de triptofansintetază de către E.Coli este reprimată de prezenţa în mediu a triptofanului, adică a produsului reacţiei catalizate de enzima amintită mai sus. Pe de altă parte, absenţa din mediu a triptofanului cu rol de corepresor duce la derepresia triptofansintetazei şi respectiv la creşterea numărului de enzime dotate cu proprietatea de a produce triptofan.

Deşi inducerea, represia şi derepresia de enzime au fost iniţial descrise la microorganisme, aceste mecanisme intervin şi la animalele superioare, având un rol esenţial în reglarea metabolismelor. S-a putut demonstra că un anumit inductor poate stimula sinteza mai multor enzime înrudite, respectiv implicate în acelaşi lanţ metabolic şi că nu numai diversele substrate specifice dar şi o serie de hormoni pot îndeplini funcţia de inductori. Aşa de exemplu glucoza şi insulina induc sinteza enzimelor implicate în utilizarea glucozei (glucokinaza, fosfofructokinaza, piruvatkinaza, glucozo-6-fosfat-dehidrogenaza) sau în formarea de glicogen

Tabel 3.2.

Exemple ilustrative privind reglarea activității intracelulare a enzimelor

Enzima	Stimul	Modificare a activității	Mecanism
Glucokinază	Glucoză + insulină	crește	inducere
Fosfofructokinaza	Glucoză + insulină	crește	inducere
	Acumulare de citrat	scade	alosterie
Glicogen sintetaza	Glucoză + insulină	crește	inducere
	Adrenalină, glucagon, c-AMP	scade	inactivare prin fosforilare
Fosforilaza	Adrenalină, glucagon, c-AMP	crește	activare prin fosforilare
Piruvatcarboxilaza	Glucocorticoizi	crește	inducere
	Insulina	scade	represie
	Acetil-CoA	crește	alosterie
Fosfoenolpiruvat carboxikinaza	Glucocorticoizi	crește	inducere
	Insulină	scade	represie
Acetil-CoA carboxilaza	Insulină	crește	inducere
	Citrat	crește	alosterie
HMG-CoA reductaza	Acumulare de colesterol în celulă	scade	represie
	Depleția de colesterol a celulei	crește	derepresie
Diverse aminotransferaze	Glucocorticoizi	crește	inducere
	Insulină	scade	represie
Protrombina	Factor Xa, fosfolipide, calciu, factor V	crește (trece în trombină)	proteoliză limitată
Plasminogen	Activator tisular	crește (trece în plasmină)	proteoliză limitată

(glicogensintetaza). Totodată glucoza şi insulina reprimă enzimele cu rol în gluconeogeneză (piruvat carboxilaza, fosfoenolpiruvat-carboxikinaza), a căror sinteză este însă stimulată de hormonii glucocorticoizi.

În tabelul 3.2 sunt redate câteva exemple ilustrative privind situaţii care duc la modificarea unor anumite reacţii enzimatice precum şi mecanismele implicate în producerea respectivelor modificări.

3.2.3.3.1. Mecanisme moleculare implicate în inducere, represie şi derepresie

Spre deosebire de creşterile activităţilor enzimatice produse prin mecanism alosteric, sau ca urmare a trecerii din zimogen în enzimă şi care devin evidente în decurs de secunde, modificarea unei activităţi enzimatice inductibile implică o perioadă de latenţă care corespunde timpului necesar pentru sinteza de noi molecule de enzimă. De altfel blocarea sintezei de acid ribonucleic mesager (mRNA) cu actinomicină D., sau blocarea sintezei de proteine prin cicloheximidă şi puromicină, opresc procesul de inducere a unei activităţi enzimatice.

Se consideră că sub acţiunea agentului inductor, are loc într-o primă etapă o accelerare a procesului de transcriere, respectiv de formare a mRNA după tiparul de DNA al genei de structură care codifică respectiva enzimă (vezi fig.3.13).

Acumularea de mRNA la nivelul ribosomilor duce ulterior la stimularea sintezei de proteinezimă prin procesul de translaţie după modelul oferit de mRNA. Ca în orice sinteză de proteine, sinteza enzimei la nivelul ribosomal implică o iniţiere a procesului, urmată de elongare progresivă şi de terminare la nivelul adecvat a lanţului peptidic. Există dovezi că procesul de inducere poate fi influenţat la nivel posttranscripţional fie în sensul unei stabilizări a mRNA, fie în sensul unei degradări sau inactivări a acestuia.

Mecanismele care pot interveni în modifcările postranscripţionale ale mRNA implică clivări, metilări, poliadenilări şi fixări ale mRNA pe anumite proteine. În cazul proceselor de inducere mediate de hormoni, de exemplu cortizol, iniţial este necesară o fixare a hormonului pe receptori specifici ai celulei ţintă, urmată de internalizarea complexului receptor-hormon, care acţionează la diverse nivele stimulând transcrierea, influenţând fenomenele posttranscripţionale şi în anumite situaţii inactivând represorul. Complexitatea acestor mecanisme care implică mai multe etape, fiecare etapă supusă unui control specific, ar putea explica spectrul larg de acţiune al glucocorticoizilor care include atât efecte anabolice cât şi catabolice în funcţie de ţesutul ţintă. Aşa de exemplu cortizolul stimulează sinteza de proteine în ficat, dar exercită un efect catabolic asupra ţesutului limfoid, deşi induce sinteza de amninotransferaze în ambele ţesuturi (13,25).

3.2.3.3.2.Implicaţii medicale ale inducerii de enzime microsomiale

Pe lângă efectele mai sus menţionate privind rolul proceselor de inducere şi derepresie în controlul metabolismelor, există suficiente dovezi că inducerea de enzime joacă un rol important în metabolizarea medicamentelor şi în răspunsul organismului la diverse medicamente. Pe de altă parte, o serie de medicamente acţionează ca inductori, iar efectele lor de sporire a activităţii anumitor sisteme enzimatice se repercută nu numai asupra metabolizării respectivelor medicamente ci şi asupra altor metabolisme.

Lista agenţilor inductori este lungă şi în continuă proliferare. Ea include medicamente anticonvulsivante (fenobarbital, fenitoină), antifungice (griseofulvină), antibiotice (rifampicina), antiinflamatorii (aminopirina, fenilbutazona), anticoagulante (warfarina), agenţi de adicţie (alcool şi marijuana), contraceptive orale (progesteron), pesticide (DDT), hidrocarburi policiclice (din fumul de ţigară, din carnea de grătar).

Ficatul este principalul organ în care au loc procesele de inducere sub acţiunea agenţilor mai sus amintiţi, dar astfel de mecanisme de inducere enzimatică au putut fi demonstrate în placentă, în intestin şi în limfocite.

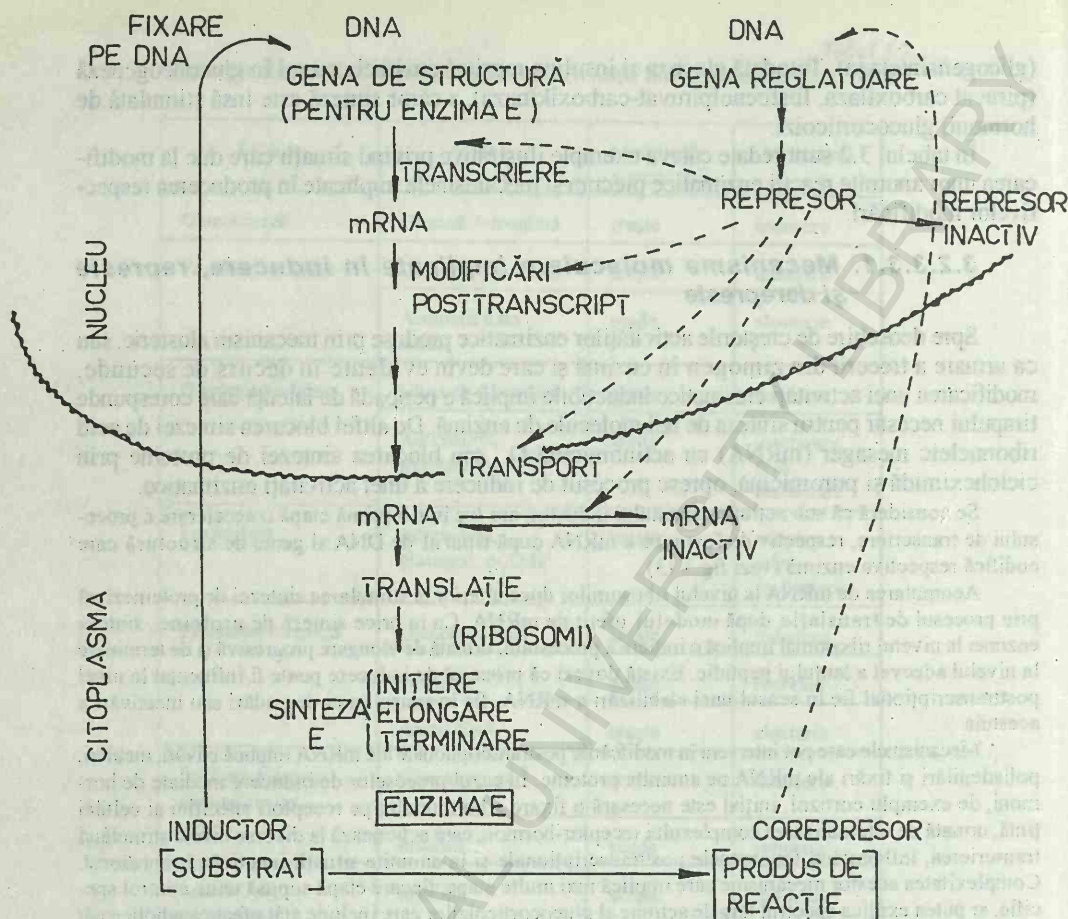


Fig.3.13. Reprezentare schematică a inducerii și represiei unei enzime E. Substratul enzimei acționează ca inductor, se fixează pe acidul dezoxiribonucleic(DNA) din nucleu și inițiază formarea de acid ribonucleic mesager (mRNA) specific pentru enzima E; la nivelul ribosomilor are loc translația și inițierea sintezei de enzimă. Pe de altă parte, produșii reacției catalizate de enzima E, determină la nivelul genei reglatoare sinteza de represor care limitează producerea enzimei E la diverse nivele (transcriere, posttranscriere, la transportul prin membrana nucleară și eventual accelerând inactivarea mRNA. De notat că substratul poate interveni și prin inactivarea represorului producând fenomenul de derepresie. Linia plină indică calea procesului de inducere, iar linia întreruptă se referă la căile prin care se reprimă sinteza enzimei.

Literatura medicală insistă asupra **sistemului microsomal de hidroxilare a medicamentelor** cunoscut și sub denumirea de **sistem al oxidoreductazelor microsomale cu funcții mixte**. Reacțiile catalizate de aceste enzime includ hidroxilări ale unor structuri alifatice sau aromatice, demetilări, dehalogenări precum și glicuronoconjugări. Efectele esențiale ale acestor reacții constau în transformarea unor substanțe străine organismului (xenobiotice) din forma liposolubilă în forme hidrosolubile mai ușor de eliminat pe cale renală sau biliara. Ca urmare, sistemele enzimatice mai sus amintite necesită prezența de O_2, din care un atom este utilizat pentru hidroxilarea xenobioticului iar celălalt pentru generarea de H_2O împreună cu hidro-

genul cedat de $NADPH_2$ sau $NADH_2$. Totodată, la asigurarea fluxului de electroni necesari pentru reducerea atomului de oxigen contribuie citocromoxidoreductaza (EC 1.6.99.3) şi un grup de citocromi, dintre care mai bine caracterizaţi sunt citocromii P450 şi P448 (denumiţi astfel după lungimea de unde de 450 nm şi respectiv 448 nm la care prezintă un maxim de absorbţie.

Există o serie de implicaţii cu importanţă pentru medicină a inducerii oxidoreductazelor microsomale cu funcţii mixte.

1. În primul rând sporirea accentuată a capacităţii de hidroxilare, are drept urmare o metabolizare şi implicit o eliminare mai rapidă atât a medicamentului care a indus sistemul enzimatic cât şi a altor xenobiotice. Astfel subiecţii trataţi cronic cu fenobarbital metabolizează mai rapid anticoagulantele cumarinice, tolbutamida, aminopirina, fenilbutazona, clorpromazina, fenitoina şi digitoxina.

2. Inducerea prin fenobarbital a bilirubinglicuroniltransferazei accelerează procesul de glicuronconjugare a bilirubinei şi are efecte favorabile asupra hiperbilirubinemiilor indirecte (neonatale, boala Gilbert, sindrom Criggles-Najjar tip II). Totodată inducerea enzimelor care intervin în hidroxilarea acizilor biliari duce la creşterea solubilităţii în apă a acestora şi implicit la creşterea fluxului biliar apos, cu repercusiuni favorabile asupra fenomenelor de colestază intrahepatică (vezi cap.4).

3. Pe de altă parte, inducerea cauzată de fenobarbital poate avea efecte nedorite cum sunt metabolizarea accelerată a vitaminei D şi a metaboliţilor biologic activi ai acesteia, ceea ce favorizează dezvoltarea rahitismului şi osteomalaciei sau accentuarea osteoporozei. Inducerea oxidoreductazelor accelerează şi hidroxilarea hormonilor steroizi (androgeni, estrogeni, progestativi precum şi a glucorticoizilor) dar importanţa acestor procese pentru eventuale disfuncţii hormonale nu a fost încă dovedită.

4. Agravarea porfiriilor în urma consumului de barbiturice s-ar putea explica prin inducerea de către fenobarbital a citocromului P450 cu structură heminică. Se ajunge astfel la o dirijare sporită a moleculelor de hem spre formarea de citocrom P450 şi la o scădere a rezervelor intracelulare de hem care acţionează totodată, în calitate de corepresor al deltaaminolevulinicsintetazei, la frânarea porfirogenezei. Cu alte cuvinte, inducerea prin fenobarbital a citocromului P450 duce la o derepresie a sintezei de porfirine şi la fenomenele neurologice date de agravarea porfiriilor acute.

5. S-a arătat că o serie de hidrocarburi policiclice îşi sporesc efectul cancerigen prin hidroxilare, în timp ce hidrocarburile aromatice devin mai puţin carcinogene în urma hidroxilării. S-ar părea deci că inducerea sistemului microsomal hidroxilant poate fie accelera, fie încetini creşterea tumorală în funcţie de carcinogenul implicat.

6. Consumul cronic de alcool are un efect inductor asupra oxidoreductazelor microsomale cu funcţii mixte ceea ce duce nu numai la creşterea propriei sale metabolizări dar şi la accelerarea metabolizării tolbutamidei, antivitaminelor K., barbituricelor şi fenitoinei, ceea ce ar putea explica toleranţa crescută a alcoolicilor faţă de sedative. O singură doză mare de alcool inhibă însă metabolizarea substanţelor amintite, ceea ce explică efectele toxice cumulative ale ingestiei unor doze masive de alcool împreună cu barbiturice. Consumul cronic de alcool duce la creşterea γ-glutamil-transferazei în ser iar sevrajul duce la scăderea activităţii serice a acestei enzime.

7. Adaptarea nou-născuţilor la viaţa extrauterină depinde în mare măsură de maturarea funcţiilor biochimice şi fiziologice în cursul dezvoltării fetale şi există dovezi că hormonii cum sunt glucocorticoizii şi tiroxina contribuie la maturarea funcţiilor biochimice prin inducerea sintezei de enzime. Chiar şi producerea de surfactant la nivelul alveolelor pulmonare şi

respectiv maturarea plămânilor implică inducerea enzimei colinfosfotransferază sub acţiunea glucocorticoizilor.

8. Capacitatea aiasistemelor enzimatice de a răspunde la agenţi inductori scade la vârstnici, ceea ce ar putea explica reducerea posibilităţilor de adaptare a metabolismelor la solicitări sporite.

9. Se ridică şi problema unei posibile intervenţii a unor mecanisme de inducere enzimatică în cazul subiecţilor obezi şi hipertrigliceridemici. De fapt, injectarea intraperitoneală repetată de fenobarbital la iepuri duce la creşterea trigliceridelor serice şi hepatice, iar acest procedeu ca şi alimentaţia bogată în fructoză induce sinteza de fosfatidatfosfohidrolază, o enzimă cu rol în producerea trigliceridelor. Pe de altă parte, subiecţii obezi şi hipertrigliceridemici prezintă o accelerare a procesului de clearance al antipirinei ceea ce sugerează o amplificare a reticulului endoplasmatic şi o activitate sporită a enzimelor microsomale cu rol în metabolizarea medicamentelor.

10. Evidenţierea unui proces de inducere a enzimelor microsomale cu mijloacele laboratorului clinic se bazează pe detectarea creşterilor urinare de 6-β-hidroxicortisol şi de acid D-glucaric, pe creşterea activităţii γ-glutamiltransferazei (o enzimă inductibilă) şi pe accelerarea eliminării din organism a antipirinei administrate (13,14).

3.3. BAZELE FIZIOPATOLOGICE ALE DIAGNOSTICULUI ENZIMATIC

Aşa cum s-a arătat mai sus, majoritatea reacţiilor enzimatice ca şi reglarea acestor procese au loc la nivelul celulelor, iar laboratorul clinic încearcă să contribuie la diagnostic şi la stabilirea prognosticului pe baza determinărilor de enzime în umori şi mai ales în serul bolnavilor. Din acest motiv, este important de stabilit prin ce mecanisme se ajunge la modificarea activităţilor enzimatice în ser, respectiv în plasmă.

3.3.1. PROVENIENŢA ENZIMELOR PLASMATICE

Din punct de vedere al mecanismului prin care enzimele ajung în plasmă, se pot distinge următoarele categorii:

a. **Enzime secretate activ în plasmă**. Astfel de enzime sunt secretate mai ales de ficat şi acţionează de regulă asupra unor substrate din plasmă îndeplinind la acest nivel un rol fiziologic. În această grupă se includ o serie de factori ai coagulării (protrombina, factorii VII, IX, X, XIII) lecitin-colesterol aciltransferaza (LCAT) cu rol în esterificarea colesterolului din plasmă şi colinesteraza. Insuficienţa funcţională a celulelor care produc astfel de enzime se asociază cu scăderea activităţii plasmatice a enzimelor respective.

b. **Enzime ale secreţiilor exocrine**. Cea mai mare parte a unor astfel de enzime cum sunt amilaza pancreatică şi salivară, lipaza pancreatică, pepsinogenul gastric şi fosfataza acidă prostatică se varsă în canalele excretoare şi doar o mică fracţiune scapă în limfă şi de acolo în plasmă. Aşa de exemplu, în condiţii fiziologice, 98% din α-amilaza produsă în acinii glandulari ai pancreasului ajunge în duoden. Ca urmare, activitatea acestei enzime este de 500-800 ori mai mare în duoden decât în ser. În caz de leziuni ale celulelor secretoare sau de obstrucţii acute ale canalelor excretoare, partiţia exo-endocrină amintită se alterează şi un procent mai mare de enzime trece în limfă şi de acolo în plasmă.

În principiu, atrofia organului producător de enzime ar trebui să ducă la o scădere a activității serice a enzimelor din această categorie, dar insuficiența funcțională a celulelor producătoare poate fi mai bine evaluată în produsul de secreție (respectiv în sucul duodenal în cazul α-amilazei pancreatice).

c. **Enzime celulare**. Astfel de enzime acționează exclusiv intracelular, iar creșterea lor în ser denotă o alterare a membranei celulare,, permițându-se astfel "scurgerea" lor in lichidul interstițial, limfă și plasmă.

Principalele enzime celulare (enzime plasmatice de leziune) utilizate în scop de diagnostic sunt lactatdehidrogenaza (LDH), alaninaminotransferaza (ALAT) aspartataminotransferaza (ASAT), creatinkinaza (CK, notată și CPK) și glutamatdehidrogenaza (GLDH).

Natura enzimei celulare, a cărei activitate crește în ser, precum și gradul unei astfel de creșteri depind de:

1. Echipamentul enzimatic al organului lezat . Această noțiune nu trebuie însă absolutizată. Astfel, rinichiul este organul cel mai bogat în γGT, dar în majoritatea cazurilor leziunile renale nu duc la creșteri ale acestei enzime în ser deoarece enzima scursă din tubii renali trece în urină. În schimb ficatul, cu un conținut mai redus de γGT este principala sursă a creșterilor de enzimă în ser.

2. Localizarea intracelulară a enzimelor și permeabilitatea membranelor celulare și mitocondriale (vezi fig.3.10).

3. Gradul de vascularizație a organului lezat și viteza de circulație la nivelul zonelor lezate, de care depinde "spălarea" enzimelor ieșite din celule în lichidul interstițial și trecerea lor în plasmă.

4. Prezența sau absența unei bariere inflamatorii.

5. Solubilitatea enzimei în lichidul extracelular și măsura în care celulele lezate vin în contact direct cu plasma. Astfel, datorită contactului intim al hepatocitelor cu sângele circulant, leziunile hepatice permit o deversare rapidă a enzimelor celulare în plasmă. În cazul altor organe, trecerea din celule în sânge decurge mai lent prin intermediul lichidului interstițial și al limfei.

6. Viteza de degradare și de eliminare a enzimei celulare ajunsă în plasmă.

7. Numărul de celule lezate și gradul de afectare al fiecărei celule precum și viteza cu care s-au produs leziunile.

Pe lângă cele trei categorii de mecanisme care duc la modificări ale activității enzimelor serice, sunt de menționat enzimele indicatoare ale colestazei și cele care reflectă un proces de inducere. Asupra unor astfel de enzime cum sunt fosfataza alcalină (AlP) și γ-glutamiltransferaza (γ-GT) se va reveni în capitolul 5).

3.3.2. ELIMINAREA DIN PLASMĂ A ENZIMELOR

Se recunosc mai multe mecanisme prin care se ajunge la scăderea activității enzimelor ajunse în plasmă.

În cazul enzimelor cu greutate moleculară relativ mică, ca de exemplu α-amilaza, îndepărtarea se face pe cale urinară. Există, de asemenea, indicii că cel puțin o parte a fosfatazei alcaline hepatice se elimină prin bilă.

Scăderea activității creatinkinazei se datorează într-o primă etapă unui proces de oxidare a grupărilor SH din centrul activ al enzimei, procesul fiind însă parțial reversibil printr-o "reactivare" ce poate fi obținută prin adaosul de compuși conținând grupări SH.

Cea mai mare parte a enzimelor celulare sunt însă îndepărtate din plasmă printr-un proces de captare și degradare în macrofage. Viteza cu care se produce această îndepărtare vari-

ază de la enzimă la enzimă şi prezintă o deosebită importanţă diagnostică, întrucât recoltările de sânge efectuate la un timp prea lung de la evenimentul patologic, pot da rezultate negative. Astfel timpul de înjumătăţire (T/2) în plasmă este de circa 24-36 ore în cazul ASAT şi de 40-68 ore pentru ALAT. De menţionat că izoenzimele LDH_1 şi LDH_2 (tipul miocardic) persistă în plasmă un timp suficient de lung (T/2 = 60-180 ore) spre a avea o valoare diagnostică, pe când izoenzima LDH_5 (tipul muscular şi hepatic) se elimină extrem de rapid (T/2 = 8-12 ore) şi din acest motiv are valoarea diagnostică doar în caz de leziuni supraacute şi deosebit de extinse ale ficatului şi ale musculaturii.

Enzimele de secreţie hepatică (colinesteraza, LCAT şi factorii coagulării cu activitate enzimatică) sunt şi ele degradate în organism, iar timpul lor de înjumătăţire variază între 10-14 zile, în cazul colinesterazei şi 6-8 ore în cazul factorului VII al coagulării (1,9,24).

3.3.3. ACTIVITĂŢI ENZIMATICE ÎN URINĂ

Activităţile enzimatice detectabile în urină pot proveni, în principiu, din următoarele surse:
1) filtrare glomerulară a enzimelor din plasmă;
2) remanierea permanentă a celulelor renale, ureterale şi vezicale;
3) creşterea tranzitorie a permeabilităţii membranei celulelor tubulare renale (de exemplu în cursul unei hipoxii severe);
4) secreţii genitale (de exemplu fosfataza acidă din lichidul prostatic);
5) celule sanguine (hematii, leucocite);
6) bacterii.

Cu excepţia amilazei pancreatice şi salivare şi a pepsinogenului gastric (uropepsinogen), filtrarea glomerulară a enzimelor din plasmă este limitată de greutatea moleculară ridicată. Ca urmare, valori crescute ale ASAT, ALAT, CK, LDH, γ GT şi GLDH în urină pledează pentru leziuni ale celulelor tubulare renale. De fapt creşteri importante ale LDH_1, LDH_2 şi ale γ GT se detectează în boli renale acute şi mai ales în caz de rejet al unui transplant renal. Dozările de enzime urinare se practică însă rareori, astfel de determinări nefiind suficient de bine standardizate, respectiv fiind dependente de gradul de diluţie al urinei, de variaţii ale pH urinar şi de eventuala prezenţă a unor peptide urinare cu efect inhibitor (10).

3.4 VALOAREA DIAGNOSTICĂ A DETERMINĂRILOR DE ENZIME

În tabelul 3.3 se prezintă o sinteză privind semiologia principalelor enzime utilizate în scop diagnostic. Detalii privind interpretarea rezultatelor obţinute în contextul datelor clinice sunt prezentate în cele ce urmează.

3.4.1. ENZIMELE SERICE ÎN INFARCTUL MIOCARDIC

Principalele enzime cu valoare diagnostică, în cazul unei ischemii acute a miocardului care poate ajunge până la necroză, sunt CK (CPK) ASAT şi LDH. În interpretarea creşterilor în ser a activităţii acestor enzime trebuie ţinut cont de anumite particularităţi ale procesului patologic şi anume: debutul leziunii survine acut; intervalul de timp în care se instalează leziunile este relativ scurt; zona afectată este relativ limitată şi localizată; leziunile suferite de fiecare celulă sunt de regulă severe.

Tabel 3.3.

Semiologia principalelor enzime în diagnosticul de laborator. În paranteză se dau prescurtările utilizate în mod uzual.

Enzima	Proveniență	Modificări patologice	Observații
Aspartat aminotransferază (AST, ASAT)	ficat, miocard, mușchi, mici cantități în plămâni, rinichi, pancreas, eritrocite	Creșteri marcate: infarct miocardic, hepatită acută, leziuni toxice ale ficatului Creșteri moderate: hepatite cronice, mononucleoză infecțioasă, colici biliare	În ficat: 60% în citosol; 40% în mitocondrii
Alanin-aminotransferază (ALT, ALAT)	citosolul hepatocitelor, mici cantități în rinichi, pancreas, miocard, mușchi	Creșteri marcate: hepatită acută și leziuni toxice ale ficatului Creșteri moderate: hepatite cronice, mononucleoză infecțioasă, colici biliare	Localizată mai ales în hepatocitele de la periferia lobului hepatic
Lactat dehidrogenază (LDH)	musculatură, ficat, miocard, rinichi, eritrocite	Creșteri marcate: infarct miocardic, leziuni toxice ale ficatului, anemie megaloblastică Creșteri moderate: boli musculare, hemoliză, limfoame maligne, sindrom mieloproliferativ	Se disting 5 izoenzime: LDH_1, LDH_2 cresc în infarct miocardic și anemie megaloblastică LDH_1, LDH_5 cresc în boli musculare și leziuni acute ale ficatului
Creatinkinaza (CK, CPK)	musculatură, miocard, creier	Creșteri importante: infarct miocardic, distrofie musculară progresivă, dermatomiozite rhabdomioliză Creșteri moderate: injecții intramusculare cu diazepam, tetracicline; hipotiroidism	S-au evidențiat 3 izoenzime: dimerice CKMM - musculară CKMB - specifică miocardului CKBB - din creier

Glutamat dehidrogemază	ficat, mici cantităţi în rinichi, plămâni, miocard	Creşteri în leziuni severe (necrotizante) ale hepatocitelor	Enzimă mitocondrială (uniloculară)
α-amilaza	glande salivare, pancreas	**Creşteri importante:** pancreatita acută **Creşteri moderate:** parotidită, ulcer perforat, insuficienţă renală, opiacee, colici biliare, macroamilazemie	S-au evidenţiat izoenzime pancreatice şi salivare. Amilaza se elimină prin urină
Fosfataza alcalină (AlP)	ficat, oase, duoden, rinichi	**Creşteri:** colestază, boli osoase asociate cu reacţie osteoblastică **Scăderi:** hipofosfatazie genetică, mixedem, acondroplazie	Se disting izoenzime osoase, hepatice, intestinale
Fosfataza acidă (AcP)	prostată, eritrocite, plăcuţe, rinichi, ficat	**Creşteri:** carcinom de prostată cu depăşirea capsulei: uneori în carcinoame mamare cu metastaze osoase	Enzima este instabilă. Izoenzima prostatică este tartrat inhibabilă
γ-glutamil-transferaza (γGT, GGT)	rinichi, pancreas, ficat	**Creşteri importante:** colestază, alcoolism, tumori hepatice **Creşteri moderate:** hepatite cronice, pancreatite, trat. cronic cu barbiturice	Enzimă inductibilă
Colinesteraza (CHE)	secretată activ de către hepatocite	**Scăderi importante:** ciroză hepatică, intoxicaţii cu organofosforice **Scăderi moderate:** denutriţie, hipotiroidism, anemii severe, reacţie de fază acută **Creşteri:** sindrom nefrotic, obezitate androidă.	S-au descris mutaţii care afectează activitatea CHE şi mai ales deficit de hidroliză a succinilcolinei

Tabel 3.4.

Comportarea în dinamică a activităților CK, AST și LDH în infarctul miocardic. Modificat după Schmidt și Schmidt (27).

Enzimă serică	Interval de timp de la debut			Creștere maximă (multiplii ai limitei superioare a normalului)	Observații
	până la detectarea unor creșteri cu valoare diagnostică	până la atingerea valorilor maxime	până la normalizarea valorilor		
CK (CPK)	4-8 ore	16-36 ore	3-6 zile	7 (2-25)	Izoenzima CKMB este mai specifică pentru miocard
AST (ASAT)	6-10 ore	18-48 ore	3-6 zile	6 (2-14)	AST (dar nu și CK) poate crește în infarctul pulmonar
LDH	8-14 ore	24-60 ore	7-15 zile	3,3 (2-8)	Izoenzimele LDH_1 și LDH_2 sunt mai specifice pentru miocard

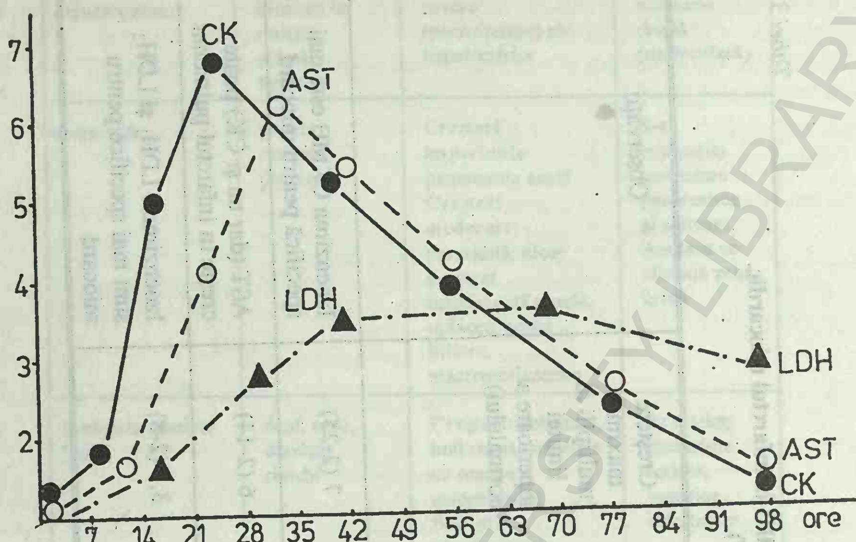


Fig. 3.14. Dinamica creşterii activităţilor CK, AST şi LDH în cursul infarctului miocardic. Pe abscisă - timpul în ore. Pe ordonată - activitatea enzimelor în ser exprimată sub forma de multipli ai limitei superioare a normalului.

Intervalul de timp de la debutul manifestărilor clinice şi electrocardiografice pe de-o parte şi creşterea semnificativă a activităţii serice a enzimelor menţionate, depinde de decalajul între producerea obstrucţiei şi modificările suferite de celulele ischemiate, ieşirea enzimelor din aceste celule şi trecerea lor din lichidul interstiţial în circulaţia sanguină. Ca urmare, aşa cum reiese din fig. 3.14 şi tabelul 3.4, creşterile activităţilor serice ale CK, ASAT şi LDH prezintă o anumită dinamică, CK fiind prima enzimă care creşte, iar LDH ultima dar cea mai persistentă. Alături de această dinamică diferită, diversele enzime utilizate în diagnosticul infarctului miocardic diferă şi în privinţa specificităţii, respectiv prin posibilitatea de a prezenta creşteri şi în alte stări patologice.

3.4.1.1. VALOAREA DIAGNOSTICĂ ŞI LIMITELE DETERMINĂRILOR DE CK (CPK)

Avându-se în vedere că musculatura striată este deosebit de bogată în CK, leziunile acestui ţesut duc la creşteri ale CK care, în anumite situaţii, pot preta la confuzii cu modificările cauzate de un infarct miocardic. Aşa de exemplu creşteri ale activităţii serice a CK se pot întâlni în: a) efort fizic excesiv efectuat de persoane neantrenate; b) aplicarea şocurilor electrice în cursul tratamentelor de conversie a unei aritmii, survenită uneori ca o complicaţie a infarctului miocardic, poate duce, prin contracturi ale musculaturii striate, la creşteri mult mai mari ale CK, decât cele explicabile prin leziunea miocardică; c) hipoxia severă a musculaturii, survenită în stări de şoc (şoc cardiogen în cursul unui infarct miocardic sau şoc hemoragic) poate duce la creşteri accentuate ale CK; d) traumatisme ale musculaturii şi chiar anumite injecţii intramusculare (tetracicline, peniciline, diazepam şi unele antiaritmice) se pot însoţi de creşteri moderate al CK; e) leziunile toxice ale musculaturii (miopatia alcoolică), miopatiile

degenerative, hipertermia malignă şi dermatomiozitele se asociază de regulă cu valori mult crescute ale CK; f) hipotiroidismul sever se însoţeşte adeseori de valori crescute ale CK, care revin la normal după tratamentul hormonal substitutiv.

Astfel de confuzii pot fi însă evitate dacă modificările activităţii serice ale CK sunt interpretate în lumina datelor clinice şi mai ales dacă se recurge la determinarea izoenzimei specifice miocardului (CKMB). Aşa cum s-a mai arătat (vezi tabel 3.3), se disting trei izoenzime ale CK şi anume: CKMM (tipul muscular), CKBB aflată în creier (fără importanţă diagnostică) şi CKMB de provenienţă miocardică. De precizat că miocardul conţine atât izoenzima CKMM (aproape 80%) cât şi izoenzima CKMB (cu ceva peste 20%) şi care este oarecum specifică miocardului. De fapt, o creştere a activităţii CK la peste dublul limitei superioare a normalului şi o valoare a CKMB de peste 5% din activitatea totală a CK sunt sugestive pentru infarctul miocardic.

3.4.1.2. UTILITATEA DETERMINĂRILOR DE ASAT

Deşi activitatea serică a acestei enzime creşte în mai mică măsură decât CK, explorarea comportării ASAT nu şi-a pierdut utilitatea. De fapt, spre deosebire de CK, ASAT creşte mai puţin în afecţiunile musculaturii. Se consideră astfel utilă stabilirea raportului CK/ASAT care, în cazul unui infarct miocardic este în medie de 5 (de exemplu CK = 500 U/l; ASAT = 100 U/l) pe când într-o leziune a musculaturii striate acest raport depăşeşte valoarea de 10, fiind în medie de 27. Trebuie însă avut în vedere că ASAT poate creşte în infarctul pulmonar, precum şi în boli hepatice. În astfel de situaţii nu se ajunge însă la creşteri de CK.

3.4.1.3. ROLUL DETERMINĂRILOR DE LDH

Creşterile LDH survin mai târziu decât în cazul CK şi ASAT dar persistă mai mult timp (vezi fig.3.14). Din acest motiv determinările de LDH (în special izoenzimele LDH_1 şi LDH_2) îşi găsesc utilitate în cazurile care, din diverse motive, ajung să fie investigate doar după câteva zile de la instalarea leziunilor miocardice. De notat importantele creşteri ale LDH_1 şi LDH_2 survenite la bolnavii cu anemie megaloblastică.

3.4.1.4. ROLUL DETERMINĂRILOR DE ENZIME ÎN DIAGNOSTICUL COMPLICAŢIILOR INFARCTULUI MIOCARDIC

Determinările de enzime pot furniza şi relaţii cu privire la o eventuală insuficienţă acută a inimii drepte survenită ca o complicaţie a infarctului miocardic sau în caz de embolie pulmonară. De fapt, congestia hepatică, instalată rapid într-o astfel de situaţie, duce la creşterea în ser a unor enzime care indică o leziune hepatică (ALAT, LDH_{4-5}) şi care pot fi greşit interpretate ca fiind cauzate de o hepatită acută virală. Totodată, staza hepatică ca şi modificarile proteosintezei hepatice, consecutive reacţiei de fază acută explică şi scăderea moderată a activităţii colinesterazei serice, constatată adeseori în zilele şi chiar săptămânile care urmează unui infarct miocardic sever (1,27).

De asemenea, în cazul instalării şocului cardiogen şi implicit a unei hipoxii generalizate, care interesează şi musculatura striată, se ajunge la o creştere exprimată a CK (izoenzima CKMM) şi a LDH_{4-5}.

3.4.1.5. EVALUAREA CRITICĂ A COMPORTĂRII ENZIMELOR SERICE ÎN INFARCTUL MIOCARDIC ŞI ÎN ALTE BOLI ALE MIOCARDULUI

De regulă, modificarile ECG preced creşterea enzimelor de leziune, astfel încât determinările de CK (CPK), ASAT şi LDH vin doar să confirme diagnosticul şi eventual să evalueze extinderea leziunii. Există însă şi situaţii în care semnele clinice şi electrocardiografice nu sunt suficient de concludente. Astfel de condiţii pot surveni în cazul microinfarctelor diseminate, în caz de preexistenţă a unei hipertrofii miocardice, în caz de persistenţă pe ECG a unor sechele ale unui infarct anterior, în bloc de ramură sau sindrom Wolf-Parkinson-White. De subliniat că o reinfarctare poate fi uşor decelată de CPK, ASAT şi LDH, pe când recunoaşterea unui astfel de proces prin examinări ECG întâmpină dificultăţi. O situaţie particulară constă din aşa-zisul infarct silenţios, adică survenit în absenţa fenomenelor dureroase. În vederea depistării unor astfel de cazuri se recomandă investigaţiile ECG şi dozări de enzime ori de câte ori se constată instalarea bruscă a unei insuficienţe cardiace, episoade de dispnee acută, aritmii sau edem pulmonar.

O problemă mult dezbătută este aceea a posibilităţii de a evalua extinderea leziunii miocardice şi implicit prognosticul unui infarct miocardic pe baza determinărilor de enzime. De fapt, prin determinări seriate de CKMB se pot face aprecieri asupra extinderii leziunii şi implicit asupra riscului instalării unei insuficienţe de pompă. Nu trebuie însă uitat că gravitatea şi prognosticul unui infarct miocardic depind nu numai de extinderea leziunii dar şi de localizarea ei. De fapt, infarcte cu extinderea relativ redusă dar afectând sistemul excitoconductor se pot solda cu deces încă din primele ore de la debut, când nivelul activităţii enzimelor din ser nu a ajuns încă la valori semnificativ crescute.

Pe de altă parte, terapia trombolitică care asigură o repermeabilizare a coronarei trombozate şi o reperfuzie a miocardului, se însoţeşte de o creştere deosebit de exprimată a enzimelor menţionate, datorită "spălării" acestora din zona de leziune şi a trecerii lor în cantitate sporită şi în ritm accelerat în torentul circulator. În astfel de situaţii creşterea deosebit de accentuată a CK şi ASAT contrastează cu evoluţia, de regulă, favorabilă (32).

În aşa-zisa "angină instabilă" cauzată de procese trombotice parietale, care nu produc o ocluzie completă a unei ramuri a arterelor coronare, creşterile de CK şi ASAT sunt puţin exprimate. Determinările acestor enzime trebuie însă efectuate seriat spre a se putea surprinde o eventuală trecere spre un infarct miocardic.

Miocarditele duc la creşteri ale CK, ASAT şi LDH doar atunci când au o evoluţie deosebit de acută şi evoluează cu procese necrotice diseminate. De notat că apariţia bruscă a unei insuficienţe cardiace, în contextul unei miocardite, se poate solda cu eliberarea de ALAT şi LDH_{4-5} din ficatul brusc congestionat. Este de precizat că hepatocitele din centrul lobului hepatic, adică cele aflate în jurul venei centrolobulare, sunt deosebit de bogate în LDH şi totodată sunt cele mai afectate de o congestie hepatică rapid instalată.

Insuficienţa cardiacă dezvoltată lent şi progresiv nu se însoţeşte de modificări apreciabile ale ASAT, ALAT şi LDH. S-a constatat însă o scădere progresivă a activităţii colinesterazei serice (CHE), denotând o reducere a capacităţii proteosintetice a ficatului ca urmare a stazei şi hipoxiei, iar enzimele indicatoare ale colestazei (fosfataza alcalină şi γ-glutamiltransferaza) prezintă o tendinţă la creştere.

Intervenţiile chirurgicale pe cord se însoţesc, conform aşteptărilor, de o creştere în ser a enzimelor de provenienţă miocardică (1,18,26).

3.4.2. MODIFICĂRI ALE ENZIMELOR SERICE ÎN BOLILE MUSCULATURII

O treime din masa corporală este reprezentată de musculatură, care conţine cantităţi importante de CK-MM, LDH_{4-5}, aldolază (ALD) şi cantităţi relativ mai reduse de ASAT. Ar trebui deci ca orice leziune musculară să se însoţească de creşteri marcate ale acestor enzime în ser.

Gradul de modificare a activităţii serice a enzimelor menţionate depinde însă în mare măsură de activitatea musculaturii şi implicit de fluxul sanguin capabil să antreneze în torentul circulator enzimele scurse din musculatura lezată. Aşa se explică faptul că, după contuzii sau chiar după intervenţii chirurgicale, care produc leziuni limitate ale musculaturii, creşterile activităţilor serice ale CK şi LDH nu sunt deosebit de accentuate, musculatura lezată fiind pusă în repaus şi având o circulaţie sanguină restrânsă.

Pe de altă parte, efortul fizic intens, care antrenează o creştere importantă a fluxului sanguin în musculatură, poate duce la creşteri semnificative ale CK, cauzate probabil de o hipoxie trecătoare. De atfel, aşa cum s-a arătat anterior, hipoxia severă şi generalizată a musculaturii, survenită în stările de şoc, se însoţeşte de creşteri importante ale enzimelor provenite din musculatură.

Creşteri moderate, dar semnificative ale CK-MM se pot decela şi după injecţii intramusculare cu tetraciclină, penicilină, diazepam şi antiaritmice, fapt care atrage atenţia asupra importanţei naturii chimice a substanţei injectate. De altfel leziunile toxice ale musculaturii între care şi o intoxicaţie acută cu alcool, pot duce în unele cazuri la o aşa zisă **rhabdomioliză** şi la creşteri extrem de accentuate ale CK (izoenzima CKMM).

Distrofiile musculare reprezintă însă principalul domeniu în care determinările de enzime îşi găsesc valoare diagnostică. De fapt, creşteri extrem de accentuate ale CK (izoenzima CKMM) care pot depăşi de 10-30 de ori limita superioară a normalului se întâlnesc în distrofia musculară progresivă şi mai ales în tipul Duchenne.

Modificările survenite în tipul rizomelic, tipul facio-scapulo-umeral, distrofia miotonică şi în bolile neuromusculare sunt mai puţin exprimate. Important este faptul că cele mai importante creşteri ale CK se constată în fazele de debut ale unei distrofii musculare progresive, când manifestările clinice locomotorii sunt relativ mai puţin exprimate, iar pierderile de masă musculară sunt încă relativ reduse. Pe măsură însă ce boala progresează şi musculatura este înlocuită cu ţesut conjunctiv şi grăsos, activitatea CK scade, astfel încât la bolnavii imobilizaţi activitatea enzimelor serice ajunge adeseori la valori în limite normale.

Dacă, pe lângă creşterea izoenzimei CKMM se constată şi valori crescute ale izoenzimei CKMB se poate bănui că procesul distrofic interesează şi miocardul.

Determinările de CK şi ALD pot fi utile şi pentru stabilirea mecanismului genetic de transmitere a acestei anomalii cu caracter familial, care se transmite prin femei (gena patologică legată de cromozomul X) şi care dă manifestări clinice doar la subiecţii de sex masculin născuţi din mame care prezintă o alelă mutantă. De fapt femeile purtătoare ale alelei mutante şi care transmit anomalia, prezintă, de regulă, nivele serice de CK şi ALD situate deasupra limitei superioare a normalului.

Dermatomiozitele se însoţesc şi ele de creşteri evidente ale CK, LDH şi ALD, mai ales în cursul puseelor acute, iar tratamentul cu cortizon normalizează nivelul seric al acestor enzime, rămânând însă fără efect în cazurile de distrofie musculară progresivă (1,18,27).

Hipertermia malignă este o formă particulară de miopatie, care survine în cursul anesteziilor (un caz la 20.000-50.000 anestezii) şi care se însoţeşte de o creştere masivă a CK, ASAT şi LDH.

Cei mai cunoscuţi agenţi declanşatori sunt halotanul şi succinilcolina, dar au fost incriminate şi eterul, tricloretilena, ciclopropanul, xilina, diazepamul şi chiar barbituricele. Se consideră că astfel de agenţi anestezici şi miorelaxanţi depolarizanţi ar declanşa la anumiţi subiecţi cu o susceptibilitate par-

ticulară un flux rapid de calciu din depozitele intracelulare spre mioplasmă. Ca urmare, se produce o excesivă exacerbare a oxidărilor, evoluând cu decuplarea fosforilărilor oxidative şi acidoză. Aceste fenomene sunt în măsură să explice atât leziunile fibrelor musculare şi implicit creşterea în ser a enzimelor amintite mai sus cât şi febra instalată brusc.

De fapt, la scurt timp de la administrarea unuia din agenţii mai sus amintiţi, subiectul susceptibil dezvoltă subit tahicardie, tahipnee, rigiditate musculară (debutată de regulă ca trismus), şi o creştere extrem de accentuată a temperaturii (uneori $41^{o}C$-$42^{o}C$). Determinările de Ck, AST şi LDH vin să confirme diagnosticul. Această "explozie metabolică" prezintă o deosebită gravitate (deces în aproximativ 60% din cazuri) de unde şi denumirea de hipertermie malignă (22).

3.4.2.1. ALŢI PARAMETRI DE LABORATOR UTILIZAŢI ÎN DIAGNOSTICUL BOLILOR MIOCARDULUI ŞI ALE MUSCULATURII STRIATE

Pe lângă determinările enzimelor şi izoenzimelor mai sus amintite, diagnosticul şi monitorizarea leziunilor miocardului şi ale musculaturii striate mai beneficiază de pe urma dozărilor imunochimice ale unor proteine specifice acestor ţesuturi şi trecute în ser. Aşa, de exemplu, orice leziune acută a ţesuturilor musculare şi a miocardului duce la eliberarea de **mioglobină**, care având o greutate moleculară relativ redusă (în jur de 17.000) se elimină prin urină şi poate fi detectată şi în acest produs de excreţie.

O importanţă mai mare se acordă dozărilor serice de **troponim** T (TnT). Această proteină din structura musculaturii striate şi din miocard contribuie împreună cu actina şi tropomiozina la formarea miofibrilelor. Metode imunochimice bazate pe utilizarea anticorpilor monoclonali au reuşit să identifice şi să dozeze diferenţiat un troponim T de origine musculară şi un TnT specific miocardului. Se consideră că determinările de TnT miocardic ar fi mai specifice pentru leziunile miocardului decât dozările de enzime, că TnT ar creşte mai rapid decât CK şi că această creştere ar fi mai persistentă chiar decât creşterea activităţii LDH (23).

Durata unei dozări de TnT printr-un procedeu ELISA este însă de 90 minute, în timp ce determinarea activităţii CK nu depăşeşte 7 minute. Acest neajuns, ca şi costul ridicat a reactivilor pentru dozarea TnT miocardic (care necesită anticorpi monoclonali) restrâng utilizarea acestei dozări imunochimice doar pentru situaţii particulare (lezări concomitente ale musculaturii şi miocardului, diagnosticul retrospectiv al infarctului).

3.4.3. ROLUL DOZĂRILOR DE ENZIME SERICE ÎN HEMATOLOGIA CLINICĂ

Anemiile megaloblastice constituie un exemplu tipic despre utilitatea determinărilor de enzime serice pentru stabilirea diagnosticului şi evaluarea eficacităţii terapiei în hematologia clinică. De fapt, în astfel de cazuri creşterile activităţii serice a LDH (în special izoenzima LDH_1) depăşesc de 4-20 ori limita superioară a normalului, iar tratamentul cu vitamina B_{12} duce la normalizarea acestei activităţi în decurs de 10-14 zile. De notat că tendinţa de revenire spre normal a activităţii serice a LDH începe şi devine evidentă înainte de apariţia crizei reticulocitare (vezi fig.3.15). Merită semnalate observaţiile conform cărora activitatea serică a LDH este întotdeauna crescută în anemiile megaloblastice cu nivel sanguin scăzut de vitamina B_{12} şi/sau acid folic şi cu răspuns favorabil la terapia substitutivă, în timp ce, în anemiile cu aspect megaloblastic al măduvei, dar refractare la tratamentul cu vitamina B_{12} sau cu acid folic, activitatea LDH nu este modificată în ser.

Astfel de cazuri de "anemie megaloblastică refractară" publicate de Simon şi colab. în 1978 (30) ar putea fi doar aspecte particulare ale sindromului mielodisplazic. De fapt, în toate cazurile de sindrom mielodisplazic urmărite în laboratorul nostru, activitatea serică a LDH nu a depăşit limita superioară a normalului (8).

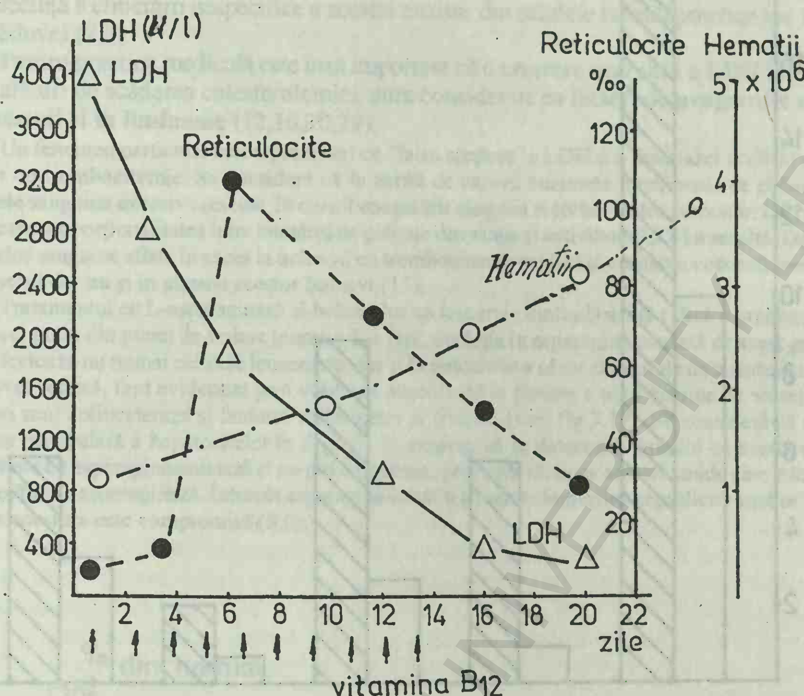


Fig.3.15. Exemplu ilustrativ privind comportarea LDH a reticulocitelor şi a numărului de hematii în cursul tratamentului cu vitamina B_{12} a unui bolnav cu anemie megaloblastică şi răspuns postterapeutic adecvat. De notat scăderea promptă a LDH încă din primele zile de tratament substitutiv.

Valori normale ale activităţii serice a LDH s-au găsit în anemiile feriprive, anemiile sideroblastice, în cazurile de aplazie medulară şi în majoritatea cazurilor de anemie hemolitică cu evoluţie cronică. De notat totuşi că în anemiile hemolitice creşteri ale LDH_1 şi LDH_2 pot surveni în cursul crizelor de deglobulizare acută, dar chiar şi în astfel de cazuri activitatea serică a LDH se situează sub media valorilor întâlnite în anemiile megaloblastice (7.8). Dacă însă, la un bolnav cu anemie hemolitică, se constată o creştere importantă şi persistentă a activităţii serice a LDH, se poate bănui că a intervenit o carenţă secundară de acid folic. O astfel de carenţă poate surveni ca urmare a unei exacerbări cu caracter compensator a eritropoiezei şi implicit consumului excesiv a rezervelor de acid folic de către eritronul hiperplaziat (mai ales când acest consum exagerat nu este corectat de un aport adecvat). Întrucât în situaţia mai sus menţionată elementele seriei roşii capătă un caracter macrocitar sau chiar megaloblastic, mecanismul creşterii activităţii serice a LDH este mai probabil similar cu cel care intervine în anemiile de tip Biermer.

Deşi acest mecanism nu este încă pe deplin elucidat, se consideră că o degradare intramedulară a elementelor imature ale eritronului şi un turnover accelerat al acestor celule s-ar solda cu o eliberare masivă de LDH care trece în sângele circulant.

Pentru un astfel de concept pledează şi observaţiile care au evidenţiat valori de 2-3 ori mai ridicate ale activităţii LDH în serul sângelui medular al bolnavilor cu anemie megaloblastică.

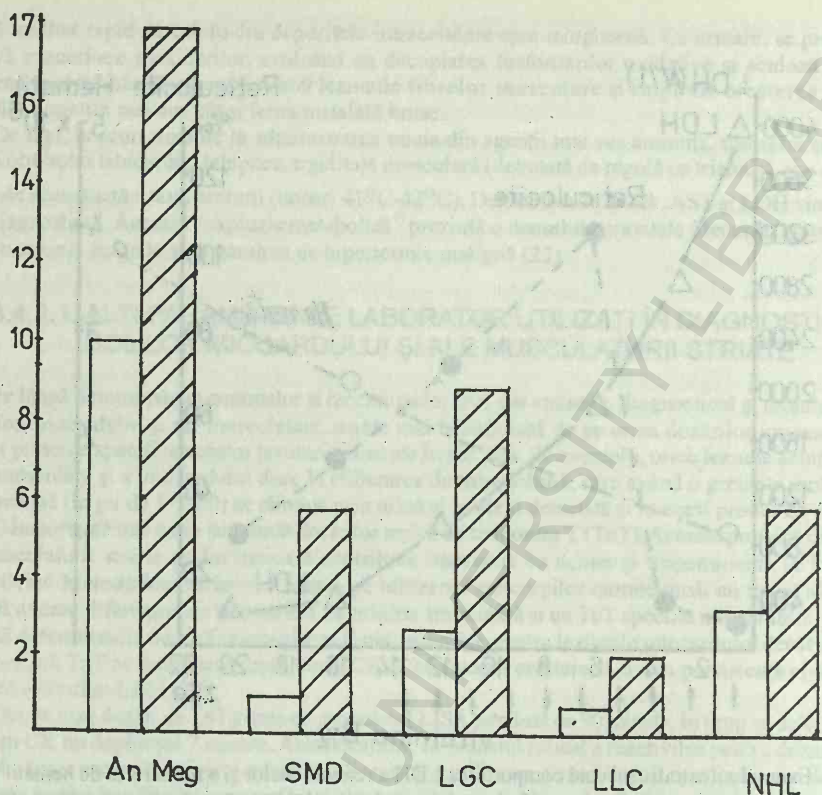


Fig.3.16. Comportarea activităţii LDH în serul sângelui recoltat din vena cubitală (coloane albe) şi în serul sângelui medular (coloane haşurate) la bolnavi cu anemie megaloblastică (An.Meg.) la bolnavi cu sindrom mielodisplazic (SMD) în leucemia granulocitară cronică (LGC), leucemie limfoidă cronică (LLC) şi la bolnavi cu limfom non Hodgkin (NHL). Pe ordonată - activitatea în multipli ai limitei superioare a normalului din serul sângelui periferic. Coloanele reprezintă mediana valorilor obţinute (8).

comparativ cu activitatea acestei enzime în serul obţinut din sângele recoltat din vena cubitală, la aceiaşi bolnavi. Pe de altă parte, activitatea LDH este relativ mult redusă atât în serul sângelui medular cât şi în serul sângelui periferic al bolnavilor cu leucemie limfoidă cronică, o stare patologică în care nu survine o proliferare a elementelor mieloide. De notat însă, că în sindromul mielodisplazic, activitatea LDH din serul sângelui medular este disproporţionat crescută faţă de valorile normale găsite în serul sângelui periferic al acestor bolnavi, ceea ce pretează la o analogie cu discordanţa între celularitatea relativ bogată a măduvei şi pancitopenia din sângele periferic (fig.3.16).

În ciuda dificultăţilor privind standardizarea probelor de sânge medular, apare evident că activitatea fosfatazei alcaline din serul sângelui medular este mult crescută faţă de cea din serul sângelui periferic, acest fenomen fiind mai pregnant în stările patologice caracterizate printr-o măduvă osoasă proliferată. Deşi fosfataza alcalină din măduva osoasă s-a dovedit a fi mai susceptibilă la inactivare prin căldură, o caracteristică a fosfatazei alcaline de origine osoasă, nu se poate afirma cu certitudine la ora actuală, dacă activitatea crescută a fosfatazei alcaline, în serul sanguin al unei măduve proliferate, reprezintă o expresie a remodelării

osteoblastice a traveelor osoase, consecutivă proliferării elementelor mieloide, sau este doar o consecinţă a eliberării nespecifice a acestei enzime din celulele hematopoietice sau stromale ale măduvei (7,8).

Pentru practica medicală este însă important că o **creştere marcată a LDH** în serul sanguin, alături de scăderea colesterolemiei, sunt considerate ca factori de **prognostic rezervat în leucemii şi în limfoame** (12,16,20,29).

Un fenomen particular este reprezentat de "falsa creştere" a LDH şi a fosfatazei acide în serul bolnavilor cu trombocitemie. Se consideră că în astfel de cazuri, enzimele menţionate se eliberează din plăcuţele sanguine excesiv crescute, în cursul coagulării sângelui recoltat pentru laborator. De fapt există o oarecare proporţionalitatea între numărul de plăcuţe din sânge şi activitatea LDH a serului. Degradarea plăcuţelor sanguine aflate în exces la bolnavii cu trombocitemie explică şi creşterea concentraţiei de potasiu în serul dar nu şi în plasma acestor bolnavi (15).

Tratamentul cu L-asparaginază al bolnavilor cu leucemie limfoidă acută ridică o problemă interesantă, cel puţin din punct de vedere teoretic. De fapt, depleţia în asparagină cauzată de acest gen de terapie, afectează nu numai celulele leucemice, dar şi hepatocitele a căror capacitate de a sintetiza proteine este sever redusă, fapt evidenţiat prin scăderea accentuată în plasma a unor enzime de secreţie hepatică cum sunt colinesteraza şi factorul stabilizator al fibrinei (vezi fig.3.17). Se consideră că susceptibilitatea particulară a hepatocitelor la depleţia în asparagină se datorează faptului că aceste celule nu sunt dotate cu asparaginosintetază şi nu pot compensa, prin sinteză, lipsa acestei amide care a fost degradată decătre L-asparaginază. Întrucât asparagina intră în structura lanţurilor peptidice a multor proteine, sinteza acestora este compromisă (5,6).

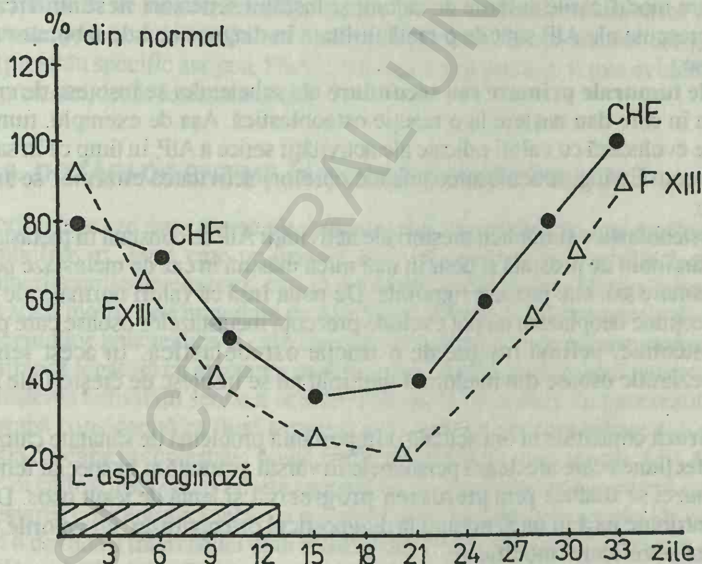


Fig.3.17. Comportarea colinesterazei serice (CHE) şi a factorului XIII stabilizator al fibrinei în cursul terapeii cu L-asparaginază la un bolnav cu leucemie limfoblastică. Pe abscisă - timpul în zile, pe ordonată - activitatea enzimelor în procente din media valorilor normale. De notat scăderea paralelă a activităţilor CHE şi a factorului XIII în urma acestei terapii care perturbă sinteza hepatică de proteine. La oprirea terapiei activităţile CHE şi a factorului XIII tind să revină la normal.

3.4.4. DETERMINĂRI DE ENZIME SERICE ÎN BOLI ALE OASELOR

Fosfataza alcalină, secretată de osteoblaste şi catalizând hidroliza unor esteri organici ai acidului fosforic, este la ora actuală singura enzimă cu importanţă practică pentru patologia ţesutului osos. De notat că izoenzima de origine osoasă diferă de fosfataza alcalină hepatică printr-o mai mare susceptibilitate la inactivarea prin căldură (33) şi printr-o migrare electroforetică mai lentă (4).

Activitatea fosfatazei alcaline de origine osoasă creşte în ser ori de câte ori are loc o reacţie osteoblastică asociată cu formarea sau repararea ţesutului osos. Aşa se explică şi faptul că la vârsta copilăriei şi, în general în perioada de creştere (până la 15-17 ani) activitatea serică a fosfatazei alcaline (AlP) prezintă valori duble sau chiar triple faţă de cele intâlnite la adulţi.

Rahitismul evoluează cu creşteri importante ale fosfatazei alcaline serice, iar tratamentul adecvat cu vitamina D reduce activitatea enzimei la valori normale corespunzătoare vârstei. Se consideră că această creştere a AlP este o consecinţă a reacţiei osteoblastice ineficiente, din cauza deficitului de calciu şi de fosfaţi.

Hiperparatiroidismul se însoţeşte de creşteri deosebit de exprimate ale AlP, mai ales atunci când sub acţiunea hormonului paratiroidian în exces se ajunge la decalcifieri osoase şi la o reacţie osteoblastică compensatorie. În hiperparatiroidismul primar (adenom al paratiroidelor) se ajunge la o importantă hipercalcemie şi hipofosfatemie (cu hiperfosfaturie) care alături de creşterea AlP contribuie la stabilirea diagnosticului

Boala Paget (osteodistrofia deformantă) se caracterizează printr-un oarecare paralelism între procesele de osteoliză şi osteogeneză şi respectiv o alternare pe diverse zone a acestor procese, astfel încât calciul resorbit dintr-o zonă de liză a osului este utilizat într-o altă zonă. Ca urmare modificările suferite de calciul şi fosfatul seric sunt nesemnificative, iar valorile mult crescute ale AlP sunt de o reală utilitate în diagnosticul de laborator al acestei afecţiuni osoase.

Procesele tumorale primare sau secundare ale scheletului se însoţesc de creşteri ale AlP, în măsura în care dau naştere la o reacţie osteoblastică. Aşa de exemplu, tumorile primare osteogene evoluează cu valori ridicate ale activităţii serice a AlP, în timp ce în sarcoamele osteolitice (sarcom Ewing, reticulosarcoame ale oaselor) activitatea enzimei se situează în limite normale.

Reacţii osteoblastice şi implicit creşteri ale activităţii AlP se constată în metastazele pornite dintr-un carcinom de prostată şi doar în mai mică măsură în caz de metastaze pornite din carcinoame mamare sau alte procese tumorale. De notat însă că valori normale ale AlP la un bolnav cu o afecţiune neoplazica nu pot exclude prezenţa metastazelor osoase care pot evolua uneori doar osteolitic, nefiind însoţite de o reacţie osteoblastică. În acest sens este de menţionat că leziunile osoase din mielomul multiplu nu se însoţesc de creşteri ale activităţii AlP în ser.

Osteoporoza constituie la ora actuală o importantă problemă de sănătate cauzatoare de invaliditate. Afecţiunea care afectează persoanele în vârstă avansată şi în special femeile după vârsta menopauzei se traduce prin pierderea progresivă şi lentă de ţesut osos. Din păcate laboratorul contribuie încă în mică măsură la diagnosticul osteoporozei, iar valorile fosfatazei alcaline nu sunt semificativ modificate.

Scăderi ale activităţii fosfatazei alcaline au fost semnalate în afecţiuni evoluând cu o încetinire a osificării şi neînsoţite de reacţii osteoblastice, ca de exemplu în deficitul sever de vitamină C, hipotiroidism sever instalat încă din copilărie, precum şi în caz de inhibare a enzimei ca urmare a perfuziilor cu EDTA administrate în scop terapeutic la subiecţii intoxicaţi cu plumb. Cele mai importante scăderi ale AlP de origine osoasă se întâlnesc însă în **hipo-**

fosfatazie, o afecţiune genetică evoluând cu fenomene de rahitism rezistent la terapia cu vitamina D.

Atunci când contextul clinic nu permite o orientare asupra provenienţei AlP serice şi când nu sunt condiţii pentru diferenţierea izoenzimei osoase faţă de cea hepatică se recomandă explorarea activităţii serice a γ-glutamiltransferazei (γGT). Astfel creşterile concomitente ale AlP şi γ GT atrag atenţia spre o origine hepatică a AlP în cadrul unei colestaze, pe când o creştere izolată a AlP poate sugera izoenzima de provenienţă osoasă (18,26,34).

3.4.5. DOZĂRILE DE FOSFATAZĂ ACIDĂ ŞI CARCINOMUL PROSTATEI

Investigarea activităţii serice a fosfatazei acide (AcP) este indicată în suspiciunea de carcinom al prostatei. Din păcate creşteri evidente ale acestei enzime survin doar în stadiile relativ avansate, atunci când tumora a depăşit capsula şi mai ales atunci când a produs metastaze osoase. Ca urmare, o creştere concomitentă şi exprimată a AlP şi AcP sugerează metastaze osoase ale carcinomului de prostată şi poate diferenţia o astfel de situaţie de alte afecţiuni ale osului. De notat că o creştere moderată, uneori abia schiţată, a activităţii serice a AcP poate surveni şi în unele boli osoase cum sunt osteopetroza (boala Albers-Schönberg), afectarea osului în boala Gaucher şi în unele cazuri de metastaze osoase ale unui cancer mamar, iar "creşteri false" ale AcP în ser se pot constata în trombocitemii. Originea prostatică a fosfatazei acide poate fi detectată pe baza proprietăţii izoenzimei prostatice de a fi rapid inhibată de tartrat (izoenzima prostatică tartrat inhibabilă). Astfel activitatea AcP prostatică = activitatea AcP - activitatea AcP + tartrat.

Determinările de fosfatază acidă şi-au pierdut însă mult din valoarea lor diagnostică, de când se poate practica dozarea imunochimică (ELISA) a aşa-zisului antigen specific al prostatei (prostata specific antigen, PSA) care creşte mai precoce şi mai evident în caz de carcinom al prostatei decât fosfataza acidă.

3.4.6. DOZĂRI DE ENZIME ÎN BOLILE PANCREASULUI

Suferinţele acute sau cronice ale pancreasului survin de cele mai multe ori în asociere cu alte îmbolnăviri, între care pe primul plan se situează litiaza biliară şi alcoolismul. Hipertrigliceridemiile severe (vezi cap.1) predispun şi ele la dezvoltarea leziunilor pancreasului. Din acest motiv, este important de a se face o diferenţiere între testele de laborator consecutive leziunilor pancreatice şi cele cauzate de suferinţa altor organe, survenite concomitent şi în strânsă legătură cu afectarea pancreasului. Astfel, deşi ţesutul pancreatic este bogat în γGT, creşterea activităţii serice a acestei enzime, la un bolnav cu pancreatită acută, poate fi mai degrabă considerată ca fiind expresia unei suferinţe hepato biliare şi a alcoolismului. Hepatopatia cu caracter colestatic poate explica şi nivelele crescute ale AlP, ASAT şi ALAT care cresc în cadrul unei colici biliare precedând sau evoluând concomitent cu o pancreatită acută. Creşterea concentraţiei serice a acizilor biliari în numeroase astfel de cazuri constituie de altfel o dovadă a intervenţiei unui reflux biliar. Pe de altă parte, o creştere a LDH (izoenzimele LDH_4 şi LDH_5) Si a CK (izoenzima CKMM), survenită la un bolnav cu o formă deosebit de severă de pancreatită acută, se explică în cadrul stării de şoc şi respectiv a hipoxiei musculaturii.

Principalele enzime, a căror creştere poate fi pusă în legătură directă cu lezarea pancreasului şi care sunt utilizate în mod curent în scop de diagnostic, sunt alfa-amilaza şi lipaza. Aceste enzime trec în ser ca urmare a unei alterări a partiţiei exo-endocrine, dar inter-

pretarea variaţiilor suferite de activitatea lor implică o serie de dificultăţi care sunt analizate în cele de urmează.

3.4.6.1. PANCREATITA ACUTĂ

Formele severe ale acestei boli sunt o consecinţă a autodigestiei ţesutului pancreatic şi a necrozei consecutive a parenchimului. Există însă şi numeroase cazuri în care leziunile nu ajung până la forme necrotico-hemoragice şi se limitează la modificări de membrană şi la edem.

Atât în formele grave cât şi în cele mai atenuate se constată o creştere a activităţii α-amilazei serice, care, la 4-5 ore de la debutul durerilor abdominale, poate ajunge la valori de 5 ori superioare celor normale, iar în decurs de 24 ore pot depăşi de 10 ori limita superioară a normalului. Gradul de creştere al α-amilazei este însă variabil de la caz la caz şi nu s-a putut stabili o legătură certă între gradul acestei creşteri şi gravitatea fenomenelor clinice sau evoluţia ulterioară a bolii (1).

Datorită eliminărilor urinare ale α–amilazei, valorile anormal crescute ale acestei enzime tind să revină spre normal deja din ziua a doua de la debutul fenomenelor acute şi doar în rare cazuri persistă mai mult de 72 de ore. Ca urmare, determinarea activităţii α-amilazei în urina colectată pe o perioadă de 24 de ore poate detecta retrospectiv eliberări ale enzimei din acinii pancreasului.

Valorile amilazuriei trebuie însă întotdeauna raportate la volumul pe 24 de ore al urinei. De notat că în cazurile evoluând cu stare de şoc şi oligurie eliminările urinare de α-amilază se reduc, iar creştera activităţii enzimei în ser persistă mai mult de 72 ore.

Valoarea diagnostică a determinărilor de α-amilază este limitată şi datorită faptului că activitatea serică a acestei enzime depinde nu numai de izoenzima pancreatică, dar şi de cea provenită din glandele salivare, iar parotiditele se însoţesc de creşteri importante ale amilazei serice (1). Există însă posibilitatea de a diferenţia cele două izoenzime prin separări electroforetice, prin rezistenţa la diverşi inhibitori şi prin adsorbţia pe schimbători de ioni.

Alte stări patologice care pot duce la creşteri ale α-amilazei serice sunt ulcerul duodenal penetrant în pancreas, ocluziile intestinale, infarctul mezenteric, colecistita acută precum şi administrările de opiacee, care adeseori produc un spasm tranzitoriu al sfincterului Oddi. O suferinţă pancreatică cu caracter trecător nu poate fi însă exclusă în situaţiile mai sus menţionate.

Pe de altă parte, perturbări în procesul de eliminare pe cale urinară a α-amilazei se însoţesc de creşteri ale activităţii enzimei în ser, fenomen constatat în boli renale, evoluând cu reducerea filtrării glomerulare. O situaţie particulară este reprezentată de aşa-zisa macroamilazemie când, în urma formării unor complexe cu greutate moleculară ridicată formate de enzimă cu imunoglobulinele (mai ales IgA), se previne filtrarea glomerulară a acestor complexe şi implicit a α-amilazei a cărei activitate creşte în ser. Acest fenomen nu pare a avea însă consecinţe patologice şi este lipsit de semnificaţie clinică.

Surprinzătoare sunt însă creşterile activităţii serice ale α-amilazei în sarcina extrauterină, tumori ovariene, salpingite, precum şi în sindromul paraneoplazic întovărăşind, de exemplu, unele carcinoame bronşiale. Mecanismele care duc la astfel de creşteri nu sunt încă pe deplin elucidate, incriminându-se în unele cazuri prezenţa de ţesut pancreatic ectopic.

Determinările de lipază serică, o enzimă considerată a fi mai specifică ţesuturilor pancreatice şi care persistă mai mult timp în ser, nu înlătură decât în parte inconvenientele determinărilor de α-amilază (Vezi tabel 3.5).

Tabel 3.5

Cauze extrapancreatice ale creşterii activităţilor serice ale amilazei şi lipazei.
+ = activitate crescută; - = activitate normală;
*** = afectarea pancreasului, nu poate fi exclusă;**
**** = asocierea unei pancreatite secundare duce şi la creşterea lipazei.**

	α-amilaza	Lipaza
Ulcer perforat*	+	+
Ileus*	+	+
Infarct mezenteric*	+	+
Colecistită*	+	+
Parotidită acută**	+	-
Insuficienţă renală	+	-
Macroamilazemie	+	-
Sarcină extrauterină	+	-
Sindrom paraneoplazic	+	-

In schimb, dozările de tripsinogen prin metode radioimunologice sau prin ELISA sunt considerate a fi deosebit de specifice, acest zimogen fiind produs doar de acinii pancreatici (11).

Observaţiile clinice seriate au relevat că în cazurile în care factorii de risc ai pancreatitei acute (de exemplu litiaza biliară, alcoolismul, hipertrigliceridemiile excesive) persistă, atacurile de pancreatită pot căpăta un caracter recurenţial, iar suferinţa pancreatică trece spre o formă cronică (1,18).

3.4.6.2. PANCREATITA CRONICĂ

Cea mai mare parte a bolnavilor de pancreatită cronică sunt alcoolici, iar în cazuri mai rare se pot incrimina alţi factori toxici sau hepatopatiile colestatice evoluând cu creşteri ale nivelului plasmatic de acizi biliari. Boala are un caracter lent progresiv şi ajunge cu timpul la insuficienţă pancreatică. Diagnosticul pancreatitei cronice întâmpină însă dificultăţi deoarece manifestările clinice sunt necaracteristice, iar creşterile activităţii α-amilazei din ser sau din urină survin doar în cursul eventualelor atacuri recurente, fiind de altfel din ce în ce mai puţin exprimate pe măsură ce parenchimul pancreatic este înlocuit de ţesut scleros.

Avându-se în vedere că pancreasul sintetizează zilnic câteva grame de enzime pe care le secretă în duoden, este firesc ca o insuficienţă a acestui organ să ducă la scăderea α-amilazei şi a lipazei în sucul duodenal. Datorită însă partiţiei exo-endocrine mai sus amintite, ar fi de aşteptat ca activitatea acestor enzime să scadă şi în ser. În realitate, scăderea activităţii serice α -amilazei în cazurile de insuficienţă pancreatică este puţin exprimată. Nu trebuie uitat că, în lipsa unui proces acut de pancreatită, mai bine de două treimi din activitatea α-amilazei

serice este dată de izoenzima salivară, astfel încât o eventuală scădere a componentei pancreatice are efect minor asupra activităţii enzimatice globale din ser. Dozările selective ale izoenzimei pancreatice, determinările de lipază serică sau dozarea radioimunologică a tripsinogenului ar putea detecta însă şi stările de hipoenzimie cauzate de reducerea parenchimului pancreatic.

De fapt, insuficienţa secretorie a pancreasului poate fi mai obiectiv evaluată prin dozarea enzimelor secretate în sucul duodenal pe unitatea de timp în urma stimulării maximale cu secretină-pancreozimină, sau prin dozări de chimotripsină în materiile fecale (1,19).

În scopul evitării intubării duodenului, s-a imaginat un test bazat pe administrarea orală a unui peptid sintetic (N-benzoyl-L-tyrosyl-p-aminobenzoic acid). Acest peptid este clivat de chimotripsină în sucul duodenal, eliberând acid p-aminobenzoic (PABA) care se absoarbe din intestin în circulaţie, şi se elimină prin urină unde poate fi dozat. La bolnavii cu insuficienţă pancreatică recuperarea în urină a PABA este de aproximativ 50% faţă de normali. Acest test este însă influenţat de eventuale perturbări renale, intestinale sau hepatice (3,19).

Insuficienţa pancreatică poate fi cauzată nu numai de o pancreatită dar şi de alte procese patologice, ca, de exemplu, fibroza chistică a pancreasului, carenţa severă de proteine (Kwashiokor), hemocromatoza, carcinoame ale pancreasului sau ale regiunii ampulare, precum şi deficite cu caracter genetic afectând sinteza diferitelor enzime pancreatice.

3.4.6.3. ENZIMELE SERICE ÎN CARCINOMUL PANCREASULUI

Atunci când carcinomul interesează capul pancreasului şi obstruează ductul biliar principal determinând astfel o colestază extrahepatică, sau în caz de metastaze hepatice ale unui astfel de carcinom se ajunge la creşterea enzimelor indicatoare ale colestazei, ca de exemplu AlP şi γGT, această creştere accentuându-se progresiv în cursul evoluţiei. Activitatea serică a enzimelor provenite din pancreas, respectiv amilaza şi lipaza nu se modifică însă în mod semnificativ în carcinoamele pancreasului, chiar şi atunci când neoplasmul duce la obstrucţia ductului pancreatic.

Astfel de rezultate negative privind comportarea α-amilazei şi lipazei se datoresc probabil caracterului lent şi progresiv cu care se instalează obstrucţia şi mai ales atrofiei ţesutului pancreatic (1).

3.4.7. ENZIMELE SERICE ÎN BOLILE FICATULUI

Dozările de enzime serice îşi găsesc o largă aplicabilitate în bolile ficatului. În esenţă, astfel de determinări pot oferi informaţii cu privire la următoarele aspecte ale patologiei hepatice:

1) Detectarea unei creşteri patologice a permeabilităţii membranei hepatocitului (de ex. ASAT, ALAT, GLDH, LDH_{4-5}).

2) Depistarea unei insuficienţe a sintezei de proteine în hepatocite (de ex. colinesteraza serică şi enzime cu rol în coagularea sângelui).

3) Indicii cu privire la existenţa unui proces de colestază (de ex. AlP şi γGT).

4. Indicii cu privire la o eventuală inducere de enzime (ca exemplu tipic γGT).

Asupra valorii diagnostice şi a limitelor determinărilor de enzime în bolile ficatului se va reveni pe larg în capitolul 5 în contextul mai larg al fiziopatologiei hepatice.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1.Adolph,L., Lorenz,R. Enzyme diagnosis in diseases of the heart, liver and pancreas. S.Karger, Basel, München,Paris, London, New York, Sydney, 1982.

2.Annoni,G., Chirillo, R., Swanie, D. Prognostic value of mitochondrial aspartate aminotransferase in acute myocardial infarction. Clinical Biochemistry, 1986, 19, 235-238.

3.Arvanitakis,C., Greenberger,N.J. Diagnosis of pancreatic disease by syntetic peptide. A new test of exocrine pancreatic function. Lancet, 1976, 1: 663-666.

4.Chapman,J.F., Woodard,L.L., Silverman,L.M. Alkaline phosphatase izoenzymes in Kaplan and Pesce (Editors). Clinical chemistry C.V.Comp. St.Louis, Toronto, Princenton, 1984, 1098-1101.

5.Cucuianu,M., Bornuz,F., Macavei,I. Effect of L-asparaginase upon serum pseudocholinesterase and ceruloplasmin levels in patients with acute leukemia. Clin.Chim.Acta, 1972, 38, 97-102.

6.Cucuianu,M., Deac,M., Bornuz,F., Macavei,I. Effect of L-asparaginase therapy upon some indices of protein metabolism in leukemic patients. Rev.Roum.Med.Int., 1973, 10, 121-131.

7.Cucuianu,M., Dosan,L., Hoinărescu,E., Pintea,L., Fischer,S. Comportarea lacticodehidrogenazei, colinesterazei şi -glutamiltransferazei în sindroamele anemice. Clujul Medical, 1984, 57, 103-109.

8.Cucuianu,A., Trif,I., Cucuianu,M., Petrov,L., Paţiu,M., Basarab,C. Serum lactate dehydrogenase and alcaline phosphatase activities and serum cholesterol level in bone marrow blood. Rev.Roum.Med.Int., 1996, 34, 173-182.

9.Cucuianu,M., Trif,I., Cucuianu,A. Hemostaza.Biochimie, Fiziopatologie, Clinică. Editura Dacia, Cluj-Napoca, 1994.

10.Dubach,D.C. Enzymes in urine and kidney. Ed.Hans huber Bern-Stuttgart, 1968.

11.Elias,E., Redshaw,M., Wood,T. Diagnostic importance of changes in circulating concentrations of immunoreactive trypsin. Lancet 1977, 11, 66-68.

12.Ferraris,A.M., Giuntini,P., Gaetani,G.P., Serum lactic dehydrogenase activity as a prognostic tool for Non-Hodgkin Lumphoma. Blood, 1979, 54, 928-932.

13.Gelehrter,T.D. Enzyme induction. New Eng.J.Med., 1976, 924, 522-526, 589-595, 646-651.

14.Goldberg,D.M. The exepading role of microsomal enzyme induction, and its implications for clinical chemistry. Clinical chemistry, 1980, 26, 691-699.

15.Kluge,A., Hang,H. Durch Thrombocyten bedingte Enzymaktivitatserhöhung. Med.Welt, 1970, 21/46, 1981-1984.

16.Kornberg,A., Polliak,A. Serum lactate dehydrogenase levels in acute leukemia. Marked elevations in lymphoblastik leukemia. Blood, 1980, 56, 351-355.

17.Linder,M.E., Gilman,A.G. G Proteins Scientific American, 1992, 267, 56-65.

18.Meyer-Bertenrath,J.G. Enzym diagnostik Die Medizinische Verlagsgesellschaf Marburg/Lahn, 1976.

19.Mitchell,C.J., Humphrey,C.S., Bullen,A.W., Kelleher,J. The diagnostic value of the oral pancreatic function test. Scand.J.Gastroenteral, 1979, 14, 183-187.

20.Muller,C.P., Wagner,A.V., Mancher,C., Steinke,B. Hypocholesterolemia, an unfavorable feature of prognostic value in chronic myelogenous leukemia. Eur.J.Haematol.1989,43, 235-239.

21.Oosting,J.D., Derksen,R.H.W.M., Bobbink,I.W.G., Hackeng,T.M., Bouma,B.N., de Groot,P.G. Antiphospholipid antibodies directed against a combination of phospholipids with prothrombin, protein C or protein S. An explanation for their pathogenic mechanism ? Blood, 1993, 81, 2618-2625.

22.Pfaff,G., Beyer,A. Maligne Hyperthermie. Annaestiologie und Intensivmedizin, 1981, 22, 67-74.

23.Puschendorf,B., Dienstl,F. Kardiales Troponim T-ein hochspezifischer Laborparameter für den akuten Myokardschaden. Labor Aktuel, 1995, 5, 5-9.

24.Richterich,R. Enzymopathologie. Ed.Springer Berlin-Gottingen-Heidelberg, 1958.

25.Rodwell,V. Enzymes in Harper (Editors). Review of Physiological Chemistry ed.14 Lange Med.Publ.Los Altos, Calif. 1973.

26.Schmidt,E., Schmidt,F.W. Enzym Fibel Boehringer Mannheim GmbH, 1971.

27.Schmidt,E., Schmidt,F.W. Klinische Pathophysiologie 3rd Edition Ed.Thieme, Stuttgart, 1975.

28.Shapiro,S.S., Siegel,J.E. Hemorrhagic disorders associated with circulating inhibitors in Ratnoff and Forbes (Editors). Disorders of Hemostasis, 1991, 245-266.

29.Shipp,M. A predictive model for aggressive non-Hodgkin lymphoma. The non-Hodgkin Lymphome prognostic factors project. N.Eng.J.Med, 1993, 329, 987-992.

30.Simon,S.D., Kim,H.C., Wu,H.V., Saidi,P. Serum lactic dehydrogenase activity in refractory megaloblastic anemia. Blood, 1978, 52, suppl.1, Abstr. 46 pag.90.

31.Sunder-Plassmann,G. ANCA - Neue diagnostiche aspekte in der nephrologie. Labor Aktuel, 1991, 3, 10-13.

32.Swan H.J.C., Ganz,W. Thrombolysis in acute myocardial infarction in Sobel, Collen, Grossbard (Editors). Tissue plasminogen activator in thrombolytic therapy. Marcel Dekker, inc.New-York and Basel 1987, 57-74.

33.Tan,I.K., Chio,L.E., Teow-Suak,L. Heat stability of serum alkaline phosphatase in bone and liver diseases. Clin.Chim.Acta, 1972, 41, 329-334.

34.Wewalka,F. Enzyme bei knochenerkraukungen und Cholestase in F.W.Schidt (Editor) Praktische Enzymologie Ed.Hans Huber Bern, Stuttgart, 1968, 319-354.

ÎNTREBĂRI DE CONTROL

1. Stabiliţi corespondenţa între noţiunile de mai jos şi definiţia lor:

A. Inductor	I. Substanţa micromoleculară care determină prin prezenţa ei o creştere a sintezei de enzimă.
B. Corepresor	II. Substanţă cu structură chimică similară substratului care se poate fixa în locul acestuia în centrul activ al enzimei.
C. Inhibitor competitiv	III. Substanţă micromoleculară care determină, prin intermediul aparatului genetic al celulei, o reducere a sintezei de enzimă.
D Inhibitor alosteric	IV. Substanţă care nu se fixează în centrul activ al enzimei, dar care intrată într-o altă zonă a moleculei de enzimă îi produce acesteia modificări conformaţionale diminuându-i afinitatea faţă de substrat.

2. Izoenzimele sunt:

A. Inhibitori ai reacţiilor enzimatice.

B. Enzime care catalizează o aceeaşi reacţie, dar care diferă sub aspectul proprietăţilor fizico-chimice.

C. Substanţe necesare pentru desfăşurarea unor reacţii enzimatice.

D. Centri activi ai enzimelor.

3. Stabiliţi corespondenţa între substanţele de mai jos şi efectele lor asupra unor reacţii enzimatice:

A. Citrat	I. Determină o inducere a enzimelor cu rol în utilizarea hidraţilor de carbon şi o represie a enzimelor implicate în gluconeogeneză.
B. Glucoză + insulină	II. Prin mecanism alosteric determină o inhibare a fosfofructokinazei şi deci o limitare a glicolizei dar totodată activează alosteric acetil-CoA carboxilaza accelerând sinteza de acizi graşi.
C. Glucocorticoizi	III. Determină o inducere a enzimelor cu rol în gluconeogeneză (piruvat carboxilază, fosfoenolpiruvatcarboxikinază).
D. Adrenalină	IV. Având structură analoagă cu vitamina K inhibă competitiv sistemul enzimatic de carboxilare a acidului glutamic din compoziţia factorilor coagulării dependenţi de vitamina K.
E. Derivate cumarinice	V. Prin intermediul receptorilor adrenergici, ai unor proteine G şi ai formării de c-AMP activează o proteinkinază care duce la activarea prin fosforilare a fosforilazei b şi iniţiază glicogenoliza.
F. Acetil-CoA	VI. Activează alosteric piruvatcarboxilaza şi activează gluconeogeneza.

4. Inhibitorii competitivi au drept efect:

A. Scăderea vitezei maximale (V) a reacţiei enzimatice.
B. Creşterea valorii Km
C. Modificări conformaţionale ale enzimei care-i reduc afinitatea faţă de substrat.
D. Toate aceste efecte.
E. Nici unul.

5. Fenomenul de inducere a enzimelor din sistemul oxidoreductazelor microsomale cu funcţii mixte ar putea explica:
A. O metabolizare mai rapidă a unor medicamente ca de exemplu anticoagulantele orale.
B. Fenomene de osteoporoză prin metabolizarea accelerată a vitaminei D la epilepticii trataţi cu barbiturice.
C. Agravarea unei porfirii acute.
D. Creşterea γ-glutamiltransferazei în ser.
E. Toate aceste fenomene.
F. Nici unul nu are o explicaţie plauzibilă.

6. Stabiliţi corespondenţa între modificarea activităţii serice a enzimelor de mai jos şi semnificaţia clinică şi fiziopatologică a acestor modificări:

A. Creşterea ALAT la peste 5 ori limita superioară a normalului	I. Leziuni ale pancreasului; posibil în cadrul unei pancreatite acute.
B. Creşterea α-amilazei serice la de 4 ori limita superioară a normalului la un bolnav obez care acuză dureri "în bară"	II. Creşterea exprimată a permeabilităţii membranei hepatocitului; posibil hepatită acută
C. Creşterea fosfatazei acide la dublul valorii normale	III. Suspiciune de carcinom prostatic care a depăşit capsula
D. Creşterea concomitentă a fosfatazei alcaline şi a γ-glutamiltransferazei.	IV. Fenomene de colestază
E. Scăderea marcată a colinesterazei serice (sub 30% din media valorilor normale)	V. Leziuni miocardice; posibil un infarct miocardic acut.
F. Creşterea CK la de peste 5 ori limita superioară a normalului, izoenzima CKMB fiind de 10% din activitatea totală a CK	VI. Alterarea funcţiei proteosintetice a ficatului

7. Creştera exprimată a cretinkinazei (CK) la un caz de distrofie musculară progresivă se întâlneşte mai frecvent:

A. În fazele de debut ale distrofiei.

B. În fazele avansate cu atrofie pronunţată a musculaturii.

C. În ambele situaţii.

D. Determinările de CK nu sunt indicate în astfel de cazuri.

8. În care din bolile hematologice de mai jos se constată cea mai exprimată creştere a lactatdehidrogenazei serice ?

A. Anemie megaloblastică.

B. Sindrom mielodisplazic.

C. Leucemie limfoidă cronică.

D. Limfom non-Hodgkin.

9. Stabiliţi corespondenţa între enzimele de mai jos şi intervalul de timp de la debutul unui infarct miocardic, la care se constată un maxim de activitate a enzimei în ser:

A. Lactatdehidrogenază (LDH)	I.	24-60 ore
B. Aspartataminotransferază (AST)	II.	18-48 ore
C. Creatinkinaza (CK)	III.	16-36 ore

10. Creşterea activităţii serice a fosfatazei alcaline într-o afecţiune osoasă indică:

A. Procesele destructive ale osului.

B. Procese reparative (proliferarea osteoblastelor).

C. Alterarea matricei proteice a osului.

D. Dezvoltarea unui mielom multiplu.

11. În care din stările patologice de mai jos se poate întâlni o creştere a α-amilazei în ser, dar nu şi a lipazei serice ?

A. Pancreatită acută

B. Parotidită fără complicaţii pancreatice

C. Macroamilazemie

D. Insuficienţă renală

E. Ulcer perforat

F. Ileus

G. Sarcină extrauterină.

12. Care din explorările de mai jos nu este utilă pentru diagnosticul unei insuficiențe pancreatice consecutive unei pancreatite cronice ?

A. Dozarea activității globale a α-amilazei în ser.
B. Dozarea chimotripsinei în materiile fecale.
C. Dozarea radioimunologică a tripsinogenului în ser.
D. Testul oral cu N-benzoil-L-tirosil-p-aminobenzoat.

13. Stabiliți corespondența între izoenzimele de mai jos și unele din particularitățile lor:

A. Fosfataza alcalină osoasă	I.	Crește în hipotiroidism și după injecții cu diazepam.
B. CM-MM	II.	Este susceptibilă la inactivarea prin căldură; prezintă valori crescute la copil și adolescent.
C. LDH_4, LDH_5	III.	Provine din musculatură și ficat: are un timp de înjumătățire scurt
D. α-amilaza salivară	IV.	Reprezintă mai bine de două treimi din activitatea totală a amilazei din ser la subiecții normali.

14. Tromboliza eficientă într-un caz de infarct miocardic duce la o creștere importantă și precoce a CK **deoarece** reperfuzia zonei infarctate face ca enzimele ieșite din celule să fie rapid trecute în circulație.

15. Activitatea LDH rămâne crescută și la 10 zile de la debutul unui infarct miocardic **deoarece** izoenzimele LDH_4, LDH_5 persistă mai mult timp în circulație.

16. Activitatea LDH din serul sângelui periferic este întotdeauna crescută în sindromul mielodiasplazic **deoarece** la acești bolnavi se constată o discrepanță între pancitopenia periferică și celularitatea bogată a măduvei.

17. Activitatea inițial mult crescută a CK în serul unui bolanv cu distrofie musculară progresivă scade în stadiile avansate ale bolii **deoarece** boala se transmite printr-un mecanism legat de sex (alela patologică pe cromozomul X).

18. Activitatea serică a α-amilazei persistă cel puțin 7 zile de la debutul unei pancreatite acute **deoarece** de regulă această enzimă nu se elimină prin urină.

19. Bolnavii epileptici trataţi în mod cronic cu fenobarbital sau fenitonină pot dezvolta osteoporoză deoarece sub efectul inductor al acestor medicamente are loc o metabolizare şi inactivare rapidă a vitaminei D în sistemul microsomial al oxidoreductazelor cu funcţii mixte.

Cheia la întrebările 14-19:

a. ambele afirmaţii corecte şi legate cauzal
b. ambele afirmaţii corecte dar nelegate cauzal
c. prima afirmaţie corectă, a doua incorectă
d. prima afirmaţie incorectă, a doua corectă
e. ambele afirmaţii incorecte.

4.FIZIOPATOLOGIA BIOCHIMICĂ A SECREȚIEI BILIARE

Volumul bazal zilnic al secreției de bilă este de 500-600 ml iar principalele componente cu importanță pentru diagnosticul de laborator sunt bilirubina și acizii biliari.

4.1. METABOLISMUL BILIRUBINEI

Bilirubina este un tetrapirol liniar liposolubil produs în macrofage prin catabolismul enzimatic al fracțiunii hem din diversele hemoproteine. Pentru înțelegerea semnificației modificărilor suferite de nivelul plasmatic al bilirubinei în diverse stări patologice este necesară o prealabilă prezentare a mecanismelor implicate în formarea acestui produs de catabolism. captarea și glicuronoconjugarea lui în ficat. eliminarea prin bilă și modificările suferite de bilirubină în intestin.

4.1.1. FORMAREA BILIRUBINEI

Principala sursă de bilirubină (peste 80%) este reprezentată de hemoglobina eliberată din hematiile îmbătrânite și captate de macrofage. La această principală sursă se mai adaugă diversele hemoproteine hepatice (citocromi. oxidaze. catalaze) care deși în cantitate mai redusă decât hemoglobina au o viteză de reîmprospătare (turnover) deosebit de rapidă. Contribuția acestor hemoproteine ca și a mioglobinei la producerea de bilirubină pare a fi însă de importanță redusă în cazul organismului uman (23). Distrucția intramedulară a unor elemente din seria roșie contribuie însă în proporție de 15-20% la formarea de bilirubină. acest proces accentuându-se mai ales în cazurile de eritropoieză ineficientă (anemii megaloblastice. talasemii) când elementele eritronului se degradează înainte de a fi lansate în circulație.

Mecanismul biochimic al formării de bilirubină implică. într-o primă etapă. ruperea punții meten a hemului. sub acțiunea unui sistem enzimatic denumit **hemoxigenază**. rezultând biliverdină. care se desprinde de pe proteina fixatoare. eliberându-se și fierul.

Într-o etapă ulterioară biliverdina se transformă în bilirubină sub acțiunea **biliverdinreductazei** (vezi fig.4.1). Transformarea hemului în bilirubină la nivelul macrofagelor decurge relativ rapid. în decurs de 2-3 ore (23). Se explică astfel faptul că în anemiile hemolitice se ajunge de regulă la hiperbilirubinemie și doar rareori la hemoglobinemie și hemoglobinurie. Cu alte cuvinte. viteza de eliberare a hemoglobinei în cursul hemolizelor patologice depășește doar în mod excepțional viteza de degradare a hemului și implicit formarea de bilirubină.

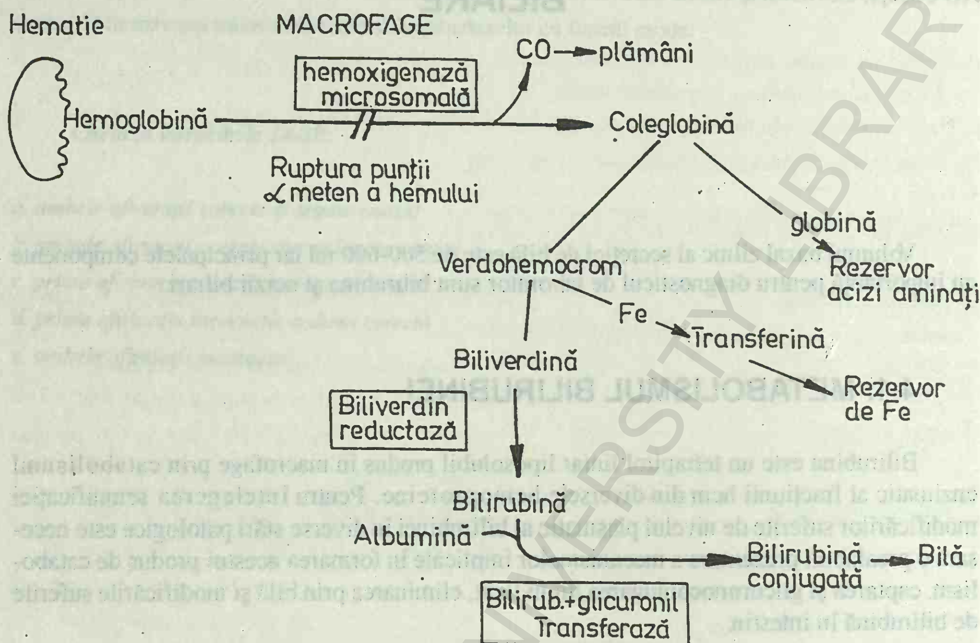


Fig.4.1. Reprezentare schematică a formării de bilirubină din hemoglobină. De notat formarea unor compuşi intermediari cum este coleglobina, care după desfacerea legăturii cu globina trece în verdohemocrom, iar după desprinderea fierului ajunge biliverdină.

4.1.2. TRANSPORTUL, CONJUGAREA ŞI ELIMINAREA PRIN BILĂ A BILIRUBINEI

Bilirubina formată în macrofage şi pătrunsă în plasmă se leagă reversibil de albuminele serice, capacitatea maximă de fixare fiind de 2 moli de bilirubină pentru 1 mol de albumină. O astfel de fixare a bilirubinei pe albumină previne o difuzare anarhică a bilirubinei în diverse ţesuturi. Datorită însă dispoziţiei discontinue a celulelor endoteliale şi a membranei bazale de la nivelul capilarelor sinusoidale care mărginesc cordoanele de hepatocite, moleculele de albumină încărcate cu bilirubină din sângele circulant vin în contact direct cu celulele hepatice, iar prin intermediul unor molecule proteice din membrana acestor celule bilirubina este captată şi internalizată în citoplasmă, unde este fixată de anumite proteine denumite ligandine. De notat că bilirubina prezintă o afinitate mai mare faţă de ligandine decât faţă de albumina serică. În principiu, bilirubina desprinsă de pe albumină şi pătrunsă în hepatocite ar putea difuza înapoi în plasmă prin membrana lipidică a celulelor, datorită caracterului său liposolubil. Acest proces este însă mult limitat atât datorită ligandinelor mai sus amintite, cât şi ca urmare a glicuronoconjugării sale, proces prin care bilirubina devine hidrosolubilă. Procesul de glicuronoconjugare a bilirubinei este catalizat de bilirubin-glicuroniltransferaza localizată la nivelul microsomilor celulelor hepatice. Acidul glicuronic este donat de nucleotidul uridin-

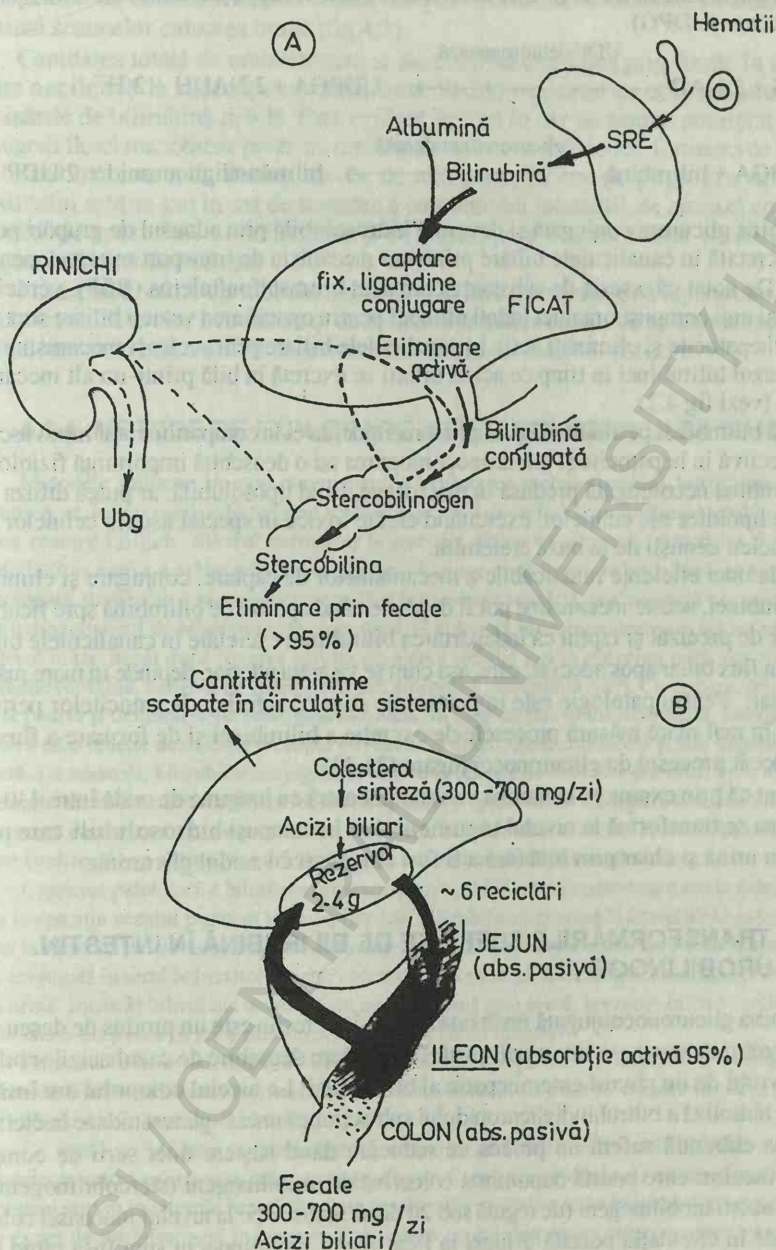
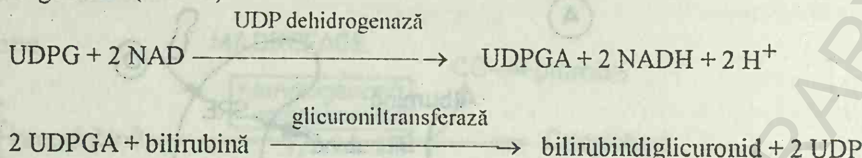


Fig.4.2. Comportarea diferită a pigmenţilor biliari (A) şi a acizilor biliari (B) în tractul digestiv. În timp ce pigmenţii biliari constituie un produs de deşeu care se elimină prin fecale, acizii biliari reprezintă un capital preţios care se reabsoarbe în cea mai mare parte la nivelul ileonului. Pierderile fecale de acizi biliari sunt înlocuite prin sinteză din colesterol în ficat. Detalii în text.

difosfat acid glicuronic (UDPGA), care la rândul său este format prin dehidrogenarea uridin-difosfat-glucozei (UDPG).



$$\text{UDPG} + 2\ \text{NAD} \xrightarrow{\text{UDP dehidrogenază}} \text{UDPGA} + 2\ \text{NADH} + 2\ \text{H}^+$$

$$2\ \text{UDPGA} + \text{bilirubină} \xrightarrow{\text{glicuroniltransferază}} \text{bilirubindiglicuronid} + 2\ \text{UDP}$$

Bilirubina glicuronoconjugată şi devenită hidrosolubilă prin adausul de grupări polare este apoi excretată în canaliculele biliare printr-un mecanism de transport energodependent şi saturabil. De notat că o serie de substanţe cum sunt bromsulfonftaleina (BSP), verdele de indocianină şi unii compuşi organici iodaţi utilizaţi pentru opacifierea vezicii biliare sunt captaţi de către hepatocite şi eliminaţi activ în canaliculele biliare prin aceleaşi mecanisme care intervin în cazul bilirubinei în timp ce acizii biliari se excretă în bilă printr-un alt mecanism de transport (vezi fig.4.2).

Fixarea bilirubinei pe albumină şi implicit menţinerea ei în compartimentul intravascular, captarea selectivă în hepatocite şi glicuronoconjugarea au o deosebită importanţă fiziologică întrucât bilirubina neconjugată produsă în macrofage, fiind liposolubilă, ar putea difuza prin membranele lipoidice ale celulelor, exercitând efecte toxice în special asupra celulelor nervoase din nucleii cenuşii de la baza creierului.

În ciuda unei eficienţe remarcabile a mecanismelor de captare, conjugare şi eliminare în bilă a bilirubinei, aceste mecanisme pot fi depăşite când aportul de bilirubină spre ficat este excesiv. Este de precizat şi faptul că îndepărtarea bilirubinei excretate în canaliculele biliare depinde de un flux biliar apos adecvat, care, aşa cum se va arăta ulterior, depinde în mare măsură de acizii biliari. Pentru patologie este important de ştiut că suferinţa hepatocitelor perturbă mai rapid şi în mai mare măsură procesele de excreţie a bilirubinei şi de formare a fluxului biliar apos decât procesul de glicuronoconjugare (21,23).

De notat că prin expunere la lumină vizibilă (albastră cu lungime de undă între 430-470 nm) bilirubina se transformă la nivelul tegumentelor în compuşi hidrosolubili care pot fi excretaţi prin urină şi chiar prin bilă fără a fi fost conjugaţi cu acidul glicuronic.

4.1.3. TRANSFORMĂRILE SUFERITE DE BILIRUBINĂ ÎN INTESTIN. UROBILINOGENII

Bilirubina glicuronoconjugată revărsată cu bila în intestin este un produs de deşeu care nu este reabsorbit de mucoasa intestinală, astfel încât, spre deosebire de cazul acizilor biliari, nu se poate vorbi de un circuit enterohepatic al bilirubinei. La nivelul colonului are însă loc un proces de hidroliză a bilirubindiglicuronidului sub acţiunea unei β-glicuronidaze bacteriene, iar bilirubina eliberată suferă un proces de reducere dând naştere unei serii de compuşi tetrapirolici incolori care poartă denumirea colectivă de urobilinogeni (stercobilinogeni). O fracţiune din aceşti urobilinogeni (de regulă sub 20%) se reabsoarbe la nivelul mucoasei colonului şi pătrunde în circulaţia portală. Ajunşi la ficat aceşti urobilinogeni sunt însă rapid captaţi şi excretaţi în bilă printr-un proces activ energodependent. Doar mici cantităţi de urobilinogeni (0-4 mg/24 h) scapă în vena suprahepatică sau ajung în circulaţia sistemică prin plexurile venoase hemoroidale şi sunt astfel eliminate prin urină. Cea mai mare parte a uro-

bilinogenilor se elimină însă prin fecale, iar prin oxidare se transformă în stercobilină care imprimă scaunelor culoarea brună (fig.4.2).

Cantitatea totală de urobilinogeni şi stercobilină eliminată prin fecale în decurs de 24 de ore oscilează la subiecţii normali între 50-280 mg, ceea ce corespunde în mare cu eliminările de bilirubină în bilă. Este evident însă că în caz de tranzit accelerat sau în urma distrugerii florei microbiene printr-un tratament susţinut cu antibiotice, formarea de urobilinogen din bilirubină este mult diminuată. Pe de altă parte, în caz de populare microbiană a intestinului subţire sau în caz de stagnare a conţinutului intestinal, se creează condiţii pentru o producţie sporită de urobilinogeni şi de absorbţie a acestora ceea ce duce implicit la creşterea eliminărilor urinare.

Principalele cauze ale urobilinogenuriei sunt însă reprezentate de hiperproducţia de bilirubină în cursul icterelor hemolitice şi de leziunile hepatice care limitează procesele de captare şi eliminare prin bilă a urobilinogenilor reabsorbiţi din intestin (21,23).

4.1.4. METODE DE EXPLORARE A METABOLISMULUI BILIRUBINEI

Metodele utilizate în mod curent pentru explorarea metabolismului bilirubinei sunt dozarea bilirubinei serice cu reactiv diazo (acid sulfanilic şi nitrit de sodiu) şi evidenţierea urobilinogenului urinar cu reactiv Ehrlich. Nivelul normal al bilirubinei serice se situează între 0,3-1,0 mg/dl (5,1-17 µmoli/l). Aşa cum s-a arătat anterior se pot însă distinge două tipuri de bilirubină, şi anume bilirubina neconjugată, prehepatică sau premicrosomală şi bilirubina conjugată, posthepatică sau postmicrosomală. Pentru diagnosticul de laborator este important de arătat că bilirubina neconjugată nu reacţionează cu reactivul diazo decât după tratarea serului cu alcool metilic sau în prezenţa unor aşa-zişi acceleratori de reacţie (cofeină, benzoat de sodiu, salicilat, antipirină, acetamidă etc.). Ca urmare, bilirubina neconjugată poartă şi denumirea de bilirubină indirectă, în timp ce bilirubina conjugată, hidrosolubilă şi mai reactivă dă o reacţie de culoare promptă cu reactivul diazo, fiind cunoscută şi sub numele de bilirubină directă. La normali, bilirubina conjugată se află în proporţie de abia 4% din bilirubina totală şi de cele mai multe ori este nedetectabilă cu metodele uzuale. În practică se recurge la dozarea bilirubinei totale în prezenţă de metanol sau de acceleratori şi la dozarea bilirubinei directe, iar valoarea bilirubinei neconjugate (indirectă) se obţine prin diferenţa între bilirubina totală şi cea directă.

Creşterea patologică a bilirubinei glicuronoconjugate în icterele colestatice sau în cele hepatocelulare duce la apariţia acestui pigment în urină întrucât bilirubina conjugată hidrosolubilă este mai difuzibilă şi mai labil fixată pe albuminele serice. De notat că acizii biliari tensioactivi care cresc împreună cu bilirubina conjugată în serul bolnavilor cu icter colestatic accentuează difuzibilitatea acesteia şi implicit excreţia ei în urină. Întrucât bilirubina neconjugată nu se elimină prin urină, prezenţa bilirubinei în urină denotă întotdeauna creşterea în ser a bilirubinei conjugate (icter coluric).

Examenele de urină, respectiv evidenţierea urobilinogenului, orientează şi asupra modificărilor suferite de bilirubină în intestin, precum şi asupra modului în care ficatul asigură captarea şi îndepărtarea prin bilă a urobilinogenilor reabsorbiţi.

La subiecţii sănătoşi, urobilinogenul urinar se află sub limita posibilităţilor de detectare cu metodele de rutină urilizate în laboratoarele clinice. Creşterile evidente ale eliminărilor urinare de urobilinogeni survin în icterele hemolitice care duc la o hiperproducţie de bilirubină şi implicit la formarea unui exces de urobilinogeni în intestin. Pozitivarea urobilinogenului urinar survine cu mare frecvenţă în diverse hepatopatii. De menţionat că eliminările maxime de urobilinogen în urină se constată între orele 14-16, când după masa de prânz se produc revărsări de bilă în intestin şi, implicit, producerea de urobilinogen din bilirubină. Nu trebuie uitat însă că eliminările urinare de urobilinogen şi de bilirubină se reduc în caz de insuficienţă renală. Caracteristică este însă dispariţia urobilinogenului urinar în caz

de obstrucție completă a coledocului evoluând cu icter mecanic, scaune decolorate și eliminări urinare de bilirubină (4,6,21).

4.1.5. PARTICULARITĂȚI ALE METABOLISMULUI BILIRUBINEI LA NOU NĂSCUT. HIPERBILIRUBINEMIA NEONATALĂ

În cursul vieții intrauterine, bilirubina neconjugată formată în macrofagele organismului fetal se elimină prin transfer placentar de la făt la mamă. Acest transfer placentar compensează deficitul mecanismelor de captare, glicuronoconjugare și eliminare a bilirubinei, care constituie o caracteristică a organismului fetal. Întrucât chiar și în primele zile de la naștere, mecanismele amintite nu sunt pe deplin maturate, iar transferul placentar de bilirubină încetează brusc, se ajunge la așa-zisul "icter fiziologic al nou născutului". De fapt, concentrația bilirubinei neconjugate poate ajunge la valori de 4-5 mg/dl în primele 24 de ore de la naștere și uneori continuă să crească în următoarele 3-4 zile până la valori de 10 mg/dl (170 µmoli/l). Mecanismele care asigură procesul de clearance al bilirubinei se maturează apoi destul de rapid, astfel încât la aproximativ o lună de la naștere bilirubinemia se află doar cu puțin peste limita superioară a normalului la adult.

La noul născut prematur, hiperbilirubinemia neonatală este mai accentuată și mai prelungită. În unele cazuri, prelungirea icterului neonatal se datorează inhibării procesului de glicuronoconjugare a bilirubinei de către un steroid (pregnan-3β-20α-diol), prezent în laptele matern. Acest "icter la laptele de mamă" cedează însă prompt la introducerea alimentației artificiale sau prin schimbarea sursei laptelui de mamă. Efecte inhibitorii asupra glicuroniltransferazei s-au descris și în urma administrării de cloramfenicol, novobiocină sau a dozelor mari de vitamina K. O prelungire exagerată a icterului neonatal, neexplicată prin agenții amintiți poate atrage atenția asupra unei insuficiențe tiroidiene a copilului.

Cele mai accentuate creșteri ale bilirubinemiei survenite în perioada neonatală și care incumbă riscul de "icter nuclear" se constată însă în caz de hemoliză excesivă prin incompatibilitate de Rh sau la imaturi și cu atât mai mult la imaturii la care a survenit o hemoliză prin incompatibilitate de Rh. În astfel de cazuri se asociază o hiperproducție de bilirubină cu deficiența mecanismelor de îndepărtare din sânge a bilirubinei neconjugate, iar nivelul bilirubinemiei tinde să treacă de 20 mg/dl (340 µmoli/l). Întrucât astfel de valori ale bilirubinemiei incumbă riscul dezvoltării de leziuni ireversibile ale sistemului nervos central, afectând mai ales nucleii cenușii de la baza creierului și putând provoca și decesul, este obligatorie monitorizarea zilnică a bilirubinemiei, iar atunci când concentrația bilirubinei serice (indirecte) are tendință de creștere și ajunge la valori peste 16 mg/dl se impun măsuri terapeutice de urgență. Aceste măsuri includ exsanguinotransfuzia, combinată eventual cu infuzii intravenoase de albumină umană, care fixând bilirubina o reține în interiorul vaselor și îi limitează difuzarea în sistemul nervos. Întrucât așa cum s-a mai arătat expunerea la lumină favorizează transformarea bilirubinei în compuși care pot fi eliminați chiar și sub formă neconjugată, acest procedeu de expunere a nou-născutului cu hiperbilirubinemie la lumina puternică produsă de un arc voltaic s-a dovedit eficient în unele cazuri (21). Deși relativ rar întâlnit, deficitul genetic de glucozo-6-fosfat dehidrogenază poate duce la un icter neonatal sever, deoarece fenomenele de hemoliză cauzate de acest deficit se suprapun imaturității mecanismelor de captare și conjugare a bilirubinei (27).

4.2. SINDROMUL ICTERIC

Icterul poate fi definit ca o colorație anormală gălbuie a pielii și a scleroticelor, cauzată de o acumulare de bilirubină. De regulă, colorația icterică apare mai intens la nivelul scleroticelor, datorită bogăției acestora în elastină, care prezintă o afinitate deosebită pentru bilirubină. Se consideră că icterul devine vizibil atunci când bilirubinemia depășește 2-2,5 mg/dl (34-42,5 μmoli/l) dar corelația între bilirubinemie și intensitatea icterului nu este strictă. Așa de exemplu creșterea bilirubinei conjugate produce un icter mai intens decât o aceeași concentrație serică de bilirubină neconjugată. Fenomenul se poate explica prin aceea că bilirubina conjugată hidrosolubilă și mai labil fixată pe albumină difuzează cu mai mare ușurință în lichidul interstițial (dar nu și în celule) și se fixează pe fibrele elastice din piele și sclero-

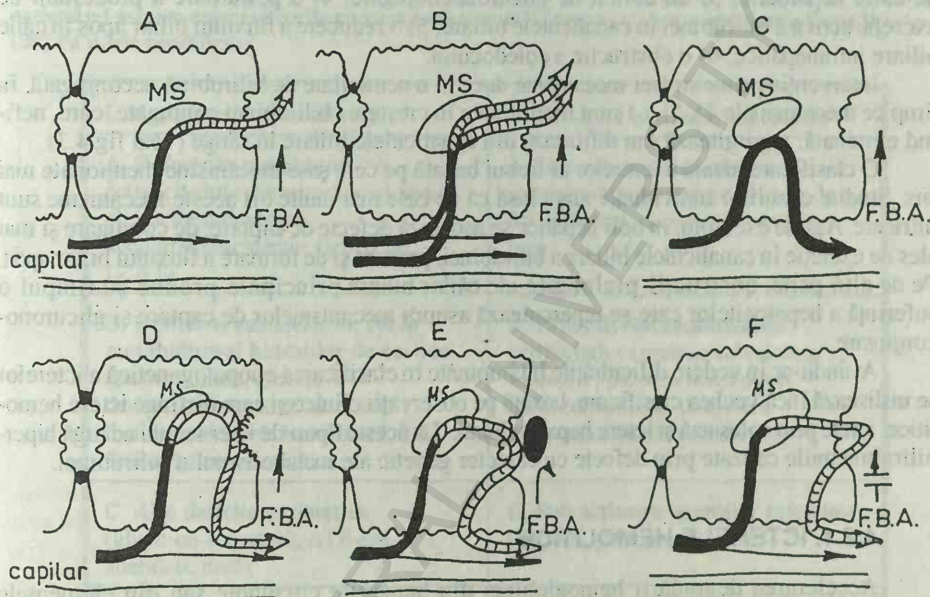


Fig.4.3. Mecanismele prin care se ajunge la creșterea bilirubinei neconjugate (săgeata plină) sau la creșterea bilirubinei conjugate (săgeata hașurată).

A. **Subiect normal**: cea mai mare parte a bilirubinei neconjugate (săgeată plină) ajunsă în ficat este captată, glicoronoconjugată la nivelul microsomilor (M S) și eliminată în bilă sub forma bilirubinei conjugate (săgeată hașurată), fiind apoi îndepărtată din canaliculele biliare sub acțiunea fluxului biliar apos (FBA).

B. **Icter hemolitic**: bilirubina neconjugată produsă în exces depășește capacitatea de captare și glicuronoconjugare a ficatului și crește în sânge. Întrucât aceste procese nu sunt deficitare ci doar depășite; se produc cantități sporite de bilirubină conjugată care ajunge în bilă fără a crește în sânge.

C. **Sindrom Crigler-Najjar**: deficitul de glicuronoconjugare face ca bilirubina neconjugată să se reîntoarcă în sânge, având drept urmare creșteri sanguine deosebit de exprimate ale acesteia.

D. **Sindromul Dubin-Johnson**: deficit în procesul de eliminare activă a bilirubinei conjugate care difuzează în sânge.

E. **Icter mecanic**: bilirubina conjugată ajunsă în canaliculele biliare nu poate fi eliminată din cauza obstacolului mecanic și reflueaza în sânge.

F. **Colestază intrahepatică**: deficitul în formarea fluxului biliar apos (FBA) face ca bilirubina conjugată să reflueze din canaliculele biliare în capilarele sanguine.

tice. O astfel de fixare este în măsură să explice şi persistenţa coloraţiei icterice şi după ce nivelul bilirubinemiei a revenit spre normal în cursul procesului de vindecare. Atunci când icterul mecanic are o evoluţie prelungită, şi în special în cazurile de obstrucţie totală a coledocului printr-un proces malign, coloraţia tegumentelor poate deveni verzuie, datorită oxidării în piele a bilirubinei spre biliverdină.

Pe de altă parte, în icterul hemolitic evoluând de regulă cu creşteri mai reduse ale bilirubinemiei şi asociat cu un anumit grad de anemie, coloraţia gălbuie apare pe fondul unei palori a tegumentelor.

Conform celor arătate cu privire la metabolismul bilirubinei, mecanismele care ar putea duce la apariţia unei hiperbilirubinemii pot fi astfel sistematizate: 1) o producţie excesivă de bilirubină cauzată de o hemoliză; 2) un defect de captare şi fixare a bilirubinei neconjugate de către hepatocite; 3) un deficit de glicuronoconjugare; 4) o perturbare a procesului de excreţie activă a bilirubinei în canaliculele biliare; 5) o reducere a fluxului biliar apos în căile biliare intrahepatice; 6) o obstrucţie a coledocului.

Intervenţia primelor trei mecanisme duce la o acumulare de bilirubină neconjugată, în timp ce mecanismele 4), 5), 6) sunt incriminate în creşterea bilirubinei conjugate, care, nefiind eliminată, regurgitează sau difuzează din canaliculele biliare în sânge (vezi fig.4.3).

O clasificare ideală a icterelor ar trebui bazată pe cele şase mecanisme menţionate mai sus. Studiul cazurilor individuale arată însă că de cele mai multe ori aceste mecanisme sunt intricate. Aşa de exemplu, în boli hepatice se asociază defecte de captare, de conjugare şi mai ales de excreţie în canaliculele biliare a bilirubinei, precum şi de formare a fluxului biliar apos. Pe de altă parte, obstrucţii prelungite ale căilor biliare principale produc cu timpul o suferinţă a hepatocitelor care se repercutează asupra mecanismelor de captare şi glicuronoconjugare.

Având-se în vedere dificultăţile întâmpinate în clasificarea etiopatogenetică a icterelor se utilizează încă vechea clasificare, bazată pe observaţii clinice şi care distinge ictere hemolitice, ictere prin colestază şi ictere hepatocelulare. La aceste tipuri de icter se mai adaugă hiperbilirubinemiile cauzate prin defecte cu caracter genetic ale metabolismului bilirubinei.

4.2.1. ICTERELE HEMOLITICE

Accelerarea degradării hemoglobinei din hematiile circulante sau din elementele intramedulare ale eritronului poate depăşi capacitatea ficatului de a capta, glicuronoconjuga şi elimina prin bilă bilirubina produsă în exces. În astfel de cazuri, durata de viaţă a hematiilor poate scădea de la 120 de zile la 20 de zile, iar cantitatea de hemoglobină degradată zilnic creşte de la 6,7 g la 40 g. Deşi, ca urmare a acestui proces, producţia de bilirubină creşte de la 200-250 mg/zi la valori de peste 1500 mg, nivelul seric al bilirubinei rareori depăşeşte concentraţia de 2-3 mg/dl. Aceasta se datorează marii capacităţi a ficatului de a depura bilirubina neconjugată, iar atunci când un bolnav cu icter hemolitic prezintă o creştere a bilirubinei serice la valori de peste 5 mg/dl se poate bănui intervenţia adiţională a unei disfuncţii hepatice.

Întrucât în cursul icterelor hemolitice creşte în ser doar bilirubina neconjugată, urina este lipsită de pigmenţi biliari (adică bilirubină). Pe de altă parte, eliminarea excesivă de bilirubină în intestin se însoţeşte de producerea unor mari cantităţi de urobilinogeni şi respectiv stercobilină, astfel încât materiile fecale devin hipercolorate, iar urobilinogenul urinar se pozitivează. Organismul uman este dotat cu mecanisme care să prevină sau măcar să limiteze hemoglobinemia şi hemoglobinuria cauzată de o hemoliză brutală, când se poate depăşi capacitatea macrofagelor de a transforma hemoglobina în bilirubină. Aşa de exemplu, hemoglobina

eliberată în plasmă se combină rapid cu anumite glicoproteine serice denumite haptoglobine. complexele formate neputând trece în filtratul glomerular şi fiind apoi progresiv captate de macrofage. Dacă este depăşită capacitatea de combinare a haptoglobinei. o parte din hemoglobina ajunsă în plasmă poate forma hem oxidat (methem). care se desprinde de pe globină şi se cuplează cu hemopexina. La rândul lor complexele methem-hemopexină sunt apoi captate şi metabolizate. Mecanismele mai sus menţionate tind să prevină o precipitare a hemoglobinei în tubii urinifieri şi limitează pierderile de fier pe cale urinară.

Tabel 4.1.

Clasificarea etiopatogenică a stărilor hemolitice, evoluând cu sau fără anemie şi cu icter de intensitate variabilă. Cele cu caracter familial se datoresc de cele mai multe ori unor defecte ale eritrocitelor (cauze corpusculare), pe când cele dobândite sunt cauzate de anomalii extrinseci, acţionând asupra unor eritrocite cu structură normală (cauze extracorpusculare). După Wintrobe (29) cu unele modificări.

I. Moştenite (corpusculare)	II. Câştigate (extracorpusculare)
A. **Defecte în membrana eritrocitului** (sferocitoză ereditară, eliptocitoză ereditară, abetalipoproteinemie, deficit de LCAT)	A. **Imunohemolitice** (transfuzii incompatibile, incompatibilitate de Rh, anticorpi la cald, anticorpi la rece)
B. **Deficit al enzimelor cu rol în metabolismul hidraţilor de carbon** (piruvatkinază, glucozo-6-fosfatdehidrogenază, aldolază, fosfofructokinază, hexokinază, 2-3-difosfatgliceromutază)	B. **Prin microtraumatizarea eritrocitelor** (proteze valvulare şi vasculare, purpură trombotică trombocitopenică, coagulare intravasculară diseminată)
C. **Alte deficite enzimatice** (glutation-reductază, ATP-ază. adenilatkinază)	C. **Sub acţiunea agenţilor infecţioşi** (bacterii, protozoare)
D. **Deficit în structura şi sinteza hemoglobinei** (talasemii, hemoglobine patologice).	D. **Sub acţiunea unor agenţi fizici sau chimici** (hipertermie, modificări de pH, sulfamide, PAS, anilină, nitrobenzen)

Clasificarea etiopatogenetică a icterelor şi respectiv a anemiilor hemolitice este redată în tabelul 4.1. iar pentru detalii se recomandă consultarea tratatelor de hematologie (29).

Diagnosticul de laborator al icterelor hemolitice se bazează pe trei categorii de modificări redate mai jos:

a. **Modificări cauzate de o distrucţie accelerată a eritrocitelor**. În această categorie se includ reducerea duratei de viaţă a hematiilor. scăderea haptoglobinelor serice. creşterea bilirubinei serice şi pozitivarea urobilinogenului urinar. iar uneori creşterea moderată a activităţii serice a lactatdehidrogenazei (LDH). Reamintim că în majoritatea cazurilor de anemie hemolitică. bilirubina serică nu depăşeşte 3 mg/dl. iar în multe forme cronice de anemie hemolitică prin mecanism imun bilirubina se situează la limita superioară a normalului de 1 mg/dl (17

μmoli/l) sau doar cu puţin peste această valoare. De notat că valori crescute ale fierului seric se întâlnesc în multe, dar nu în toate cazurile de anemie hemolitică.

De asemenea, creşterea relativ moderată a activităţii LDH survine doar în puseurile de deglobulinizare şi nu atinge valorile din anemiile megaloblastice (vezi capitolul 3).

b. **Modificări cauzate de accelerarea compensatorie a eritropoiezei**. Caracteristică pentru un astfel de proces este **creşterea reticulocitelor** în sângele periferic, iar în condiţiile unei stimulări deosebit de intense a măduvei la noul născut cu icter hemolitic se poate ajunge la apariţia de eritroblaste în sângele periferic. Frotiurile de sânge medular evidenţiază de regulă o hiperplazie eritroidă, dar în cazul unei carenţe secundare de acid folic se poate ajunge la forme macrocitare sau chiar megalocitare (când şi activitatea LDH este evident crescută). Explorarea ferocineticii (vezi cap. 6) evidenţiază o accelerare a transportului plasmatic al fierului radioactiv (^{59}Fe) şi o încorporare rapidă a acestuia în eritrocite.

c. **Modificări specifice unor anumite tipuri de anemii hemolitice**. Astfel de explorări permit stabilirea diagnosticului etiopatogenic diferenţial. Aşa de exemplu, simpla examinare a unui frotiu din sângele periferic poate depista prezenţa de sferocite, celule în seceră, schizocite, precum şi o eventuală infestare cu protozoare. Detectarea unei fragilităţi osmotice constituie o caracteristică a sferocitozei, pe când creşterea rezistenţei osmotice poate sugera o talasemie.

Examinări imunologice (test Coombs, anticorpi la rece) pot preciza natura imună a anemiei hemolitice, iar determinările de enzime eritrocitare sau de hemoglobine patologice sunt necesare pentru precizarea diagnosticului în unele anemii hemolitice cu caracter familial.

Atunci când creşterea bilirubinei neconjugate nu se asociază cu modificările mai sus menţionate denotând hemoliza, iar testele hepatice sunt normale, se poate bănui o anomalie genetică în metabolizarea bilirubinei.

4.2.2. ICTERELE COLESTATICE

Colestaza reprezintă o perturbare a mecanismelor care asigură curgerea bilei şi poate surveni începând de la polul biliar al hepatocitelor şi până la sfincterul lui Oddi. Se distinge o colestază extrahepatică cauzată de îngustarea sau obstrucţia căilor biliare extrahepatice, şi o colestază intrahepatică, în a cărei patogeneză nu poate fi incriminat un obstacol mecanic pe căile biliare. Întrucât formarea fluxului biliar apos depinde în mare măsură de metabolismul acizilor biliari, patogeneza colestazei intrahepatice va putea fi mai bine înţeleasă după prezentarea datelor privind biochimia acestor detergenţi biologici. De notat că, în timp ce nivelul seric al acizilor biliari creşte în toate formele de colestază, creşterea bilirubinei poate fi doar schiţată sau chiar absentă în fazele iniţiale ale unei colestaze intrahepatice, accentuându-se pe măsură ce colestaza se agravează. Întrucât colestaza duce la o retenţie de bilirubină conjugată, serul bolnavului dă o reacţie diazo directă, iar urina este intens colurică. Gradul de creştere a bilirubinei directe este variabil, fiind minim în formele de debut ale unei colestaze intrahepatice şi putând ajunge la valori de 15-30 mg/dl în icterele prelungite cauzate de procesele maligne ale regiunii ampulei lui Vater. Atunci când în astfel de cazuri (de exemplu neoplasm de cap de pancreas) se ajunge la o oprire completă a fluxului biliar, bilirubina nu mai ajunge în intestin şi ca urmare nu se mai formează urobilinogeni şi respectiv stercobilină. În consecinţă, materiile fecale vor fi decolorate iar urobilinogenul nu este detectabil în urină. Când însă obstrucţia nu este totală sau are un caracter intermitent (de exemplu calculul inclavat în coledoc asociat cu spasm pe sfinncterul Oddi) culoarea scaunelor este variabilă, iar urobilinogenul poate fi adeseori detectat în urină.

Tabel 4.2.

Prezentare schematică a unor date de laborator utilizate în diagnosticul diferențial al icterelor

Tipul de icter	Comportarea pigmenților biliari			Alte probe de laborator	Observații
	În sânge	În fecale	În urină		
Hemolitic	Crește bilirubina neconjugată	Hiperpigmentate	pigmenți (bilirubină) negativi; urobilinogen pozitiv	Aminotransferaze, fosfataza alcalină, γ-glutamiltransferaza normale; LDH variabil (vezi textul). Durata de viață a eritrocitelor scăzută. De regulă reticulocite crescute	Se fac explorări complementare imunologice (autoanticorpi) și hematologice (rezistența globulară, enzime eritrocitare, hemoglobine patologice)
Colestatic	Crește mai ales bilirubina conjugată	Decolorate în caz de obstrucție totală	pigmenți pozitivi; urobilinogen negativ în caz de obstrucție totală	Creșterea exprimată a fosfatazei alcaline și a γ-glutamiltransferazei; creșterea ac. biliari în sânge uneori apariția lipoproteinei X	Explorări imagistice pentru evidențierea căilor biliare și a aspectului ficatului
Hepatocelular	Crește atât bilirubina conjugată cât și cea neconjugată	Parțial decolorate în cazuri cu componentă colestatică	pigmenți pozitivi; urobilinogen variabil (vezi textul)	Probe biologice modificate în funcție de forma clinică (vezi cap.5)	Apariția icterului la un hepatic poate reprezenta un indiciu de gravitate. Se fac investigații pentru precizarea naturii hepatopatiei (alcoolică, virală, toxică etc.)

Natura colestatică a unui icter se evidenţiază şi prin creşterea marcată a activităţii serice a aşa-ziselor enzime indicatoare ale colestazei (fosfatază alcalină, gamaglutamiltransferază, 5-nucleotidază, leucinaminopeptidază). Aminotransferazele (AST, ALT) pot creşte moderat (2-4 ori limita superioară a normalului) atunci când obstrucţia căilor biliare se produce brusc (colică biliară), pe când în cazul unei stenozări lente (neoplasm de cap de pancreas) aminotransferazele nu prezintă modificări semnificative. Pe de altă parte, o obstrucţie de lungă durată duce la alterarea progresivă a parenchimului hepatic şi la pozitivarea testelor care reflectă insuficienţa hepatică (vezi capitolul 5).

O altă particularitate a icterelor colestatice şi în special a colestazelor extrahepatice este reprezentată de creşterea colesterolului liber şi a fosfolipidelor care, nemaiputând fi eliminate prin bilă se acumulează în plasmă şi formează un complex denumit lipoproteina X (vezi capitolul 1). Atunci când creşterea bilirubinei conjugate nu se însoţeşte de creşteri ale acizilor biliari şi ale enzimelor indicatoare de colestază, diagnosticul se îndepărtează de o posibilă colestază şi trebuie orientat spre o anomalie cu caracter genetic în procesul de eliminare a bilirubinei în canaliculele biliare (4,14,21,25).

4.2.3. ICTERELE HEPATOCELULARE

Sindromul icteric poate surveni într-o mare varietate de boli hepatice (hepatice acute virale, pusee evolutive ale unei hepatite cronice, hepatopatii alcoolice, ciroze hepatice), şi de cele mai multe ori constituie un indiciu de gravitate. Leziunile hepatice afectează mai ales eliminarea bilirubinei conjugate şi formarea fluxului biliar apos şi reduc în mai mică măsură procesele de captare şi glicuronoconjugare a bilirubinei produsă în macrofage. La aceste mecanisme se adaugă comprimarea canaliculelor biliare de către hepatocitele turgescente şi comprimarea ducturilor biliare din spaţiile interlobulare ca urmare a edemului inflamator din insterstiţiu. Totodată, ca urmare a necrozei unor hepatocite se pot crea comunicări între capilarele sanguine şi canaliculele biliare. Modificarea arhitecturii hepatice, cauzată de alternarea proceselor de necroză, scleroză şi regenerare nodulară, caracteristice cirozelor, creează de asemenea condiţii pentru regurgitarea bilei în capilarele sinusoidale.

Ansamblul acestor mecanisme face ca, în icterele hepatocelulare, să crească în sânge atât bilirubina neconjugată cât mai ales cea conjugată, iar în măsura în care creşte nivelul seric al acesteia din urmă se ajunge la pozitivarea pigmenţilor biliari (bilirubină) în urină. Totodată, datorită scăderii capacităţii funcţionale a hepatocitelor, urobilinogenul absorbit din intestin nu mai este captat şi eliminat prin bilă şi astfel scapă în circulaţia sistemică şi se elimină prin urină. O situaţie particulară este reprezentată de unele cazuri de hepatită acută evoluând cu pronunţate fenomene de colestază şi scaune decolorate. În astfel de cazuri, bila nu mai ajunge în intestin şi ca urmare nu se mai formează urobilinogeni. Dispariţia urobilinogenului din urina acestor bolnavi denotă o agravare, iar reapariţia urobilinogenului în urină coincide cu reluarea fluxului biliar şi indică ameliorarea colestazei. Bineînţeles că restabilirea completă a funcţiilor hepatice duce la negativarea pigmenţilor şi urobilinogenului în urină. Precizarea naturii hepatocelulare a unui icter este facilitată de pozitivarea testelor de laborator care indică lezarea celulelor hepatice şi reducerea funcţionalităţii acestor celule (vezi capitolul 5). Testele utilizate în vederea diagnosticului diferenţial al icterelor sunt prezentate succint în tabelul 4.2.

4.2.4. HIPERBILIRUBINEMII PRIN DEFECTE GENETICE ÎN METABOLISMUL BILIRUBINEI

Aceste anomalii survin relativ rar, dar au importanţă teoretică, contribuind la descifrarea defectelor moleculare care duc la hiperbilirubinemie. Se disting anomalii evoluând cu creşterea bilirubinei neconjugate (sindromul Gilbert, sindromul Crigler-Najjar, sindromul Arias) şi anomalii caracterizate prin creşterea bilirubinei conjugate (sindrom Dubin-Johnson, sindrom Rotor, sindromul stocării hepatice).

4.2.4.1. SINDROMUL GILBERT

Ca urmare a unei încetiniri a glicuronoconjugării şi a reducerii conţinutului de ligandine din citosolul hepatocitelor, subiecţii afectaţi prezintă o întârziere în procesul de îndepărtare din plasmă a bilirubinei neconjugate. Deşi are un caracter familial, mecanismul de transmitere a anomaliei este neclar, iar icterul se evidenţiază de regulă după vârsta de 20 de ani. Bilirubina indirectă este moderat crescută (de regulă sub 3 mg/dl) dar se accentuează după un post prelungit, febră sau infecţii, efort excesiv sau consum de alcool. Nivelul crescut al bilirubinei neconjugate nu se însoţeşte de vreo acuză subiectivă, subiecţii afectaţi fiind depistaţi la un examen de laborator determinat de observarea unei coloraţii subicterice. Recunoaşterea anomaliei, care, prin caracterul său benign, nu necesită tratament, prezintă totuşi şi o importanţă practică, contribuind la liniştirea subiecţilor afectaţi, care altfel ajung să fie obsedaţi că suferă de o hepatită cronică.

Este evident că înainte de a stabili diagnosticul de sindrom Gilbert, investigaţiile de laborator trebuie să fie in măsură a exclude un icter hemolitic sau o suferinţă hepatică.

4.2.4.2. SINDROMUL CRIGLER-NAJJAR (TIP I ŞI TIP II)

Spre deosebire de sindromul Gilbert, sindromul Crigler-Najjar se caracterizează printr-o afectare severă a procesului de glicuronoconjugare, astfel încât nivelul seric al bilirubinei neconjugate poate atinge valori de 15-48 mg/dl (255-316 μmoli/l) la homozigoţi.

Întrucât bilirubina neconjugată liposolubilă poate pătrunde prin membranele lipoidice ale celulelor, o astfel de hiperlibirubinemie duce la lezarea neuronilor din scoarţa cerebrală, din cerebel şi din nucleii cenuşii de la baza creierului, realizând aşa-zisul icter nuclear. O mare parte a nou-născuţilor homozigoţi pentru această anomalie sucombă încă din primele 15 luni de viaţă. La cei care supravieţuiesc, nivelul bilirubinei se stabilizează la 15-25 mg/dl, iar manifestările neurologice capătă un caracter cronic, manifestându-se mai ales prin ataxie.

Defectul de glicuronoconjugare al homozigoţilor este atât de sever încât bila are o culoare deschisă şi conţine doar mici cantităţi de bilirubină neconjugată ajunsă în bilă prin difuziune, bila fiind lipsită de bilirubină conjugată. S-a constatat că deficitul de glicuronoconjugare interesează şi alte substanţe cum sunt mentolul şi salicilaţii, care în mod normal se elimină din organism prin glicuronoconjugare.

Deficitul de eliminare prin bilă a bilirubinei este doar parţial compensat prin alte mecanisme. Aşa de exemplu, mici cantităţi de bilirubină neconjugată pot difuza prin mucoasa intestinală, pigmentul fiind apoi degradat în intestin spre compuşi hidrosolubili diazo negativi. O altă alternativă de degradare a bilirubinei are loc în piele în urma expunerii la lumină. De altfel expunerea bolnavilor la o lumină puternică (arc voltaic) constituie la ora actuală principalul mijloc prin care se poate încerca o reducere a bilirubinei la astfel de subiecţi.

Tabel 4.3.

Particularităţi clinice şi de laborator în anomaliile genetice evoluând cu creşterea bilirubinei neconjugate. În toate aceste aczuri pigmenţii biliari nu apar în urină, acizii biliari şi probele hepatice sunt în limitele normale, iar procesul de clearance al bilirubinei este deficitar

	Mod de transmitere şi vârsta la care apare icterul	Nivelul bilirubinei neconjugate	Aspectul bilei	Activitatea de conjugare a bilirubinei	Răspuns la fenobarbital	Alte particularităţi
Sindrom Gilbert	Mod de transmitere- neclar; Apare de regulă după 20 de ani	1,2-6 mg/dl (20-102 mmoli/l)	Normal pigmentată; bilirubină conjugată prezentă	moderat scăzută	prezent	La deficitul moderat de glicuronoconjugare se adaugă un deficit de ligandine. Nivelul bilirubinei creşte după un post de 48 de ore
Sindrom Crigler-Najjar tip I (homozigoţi)	Autosomal recesiv. Apare încă de la naştere	15-40 mg/dl De regulă peste 20 mg/dl (> 340 mmoli/l)	palidă, lipsită de bilirubină conjugată	absentă	absent	Duce la leziuni ale neuronilor (icter nuclear)
Sindrom Crigler-Najjar tip II (Sindrom Arias)	Autosomal dominant cu penetranţă variabilă; apare de la naştere	6-20 mg/dl (102-340 mmoli/l)	normal pigmentată creşterea procentului de bilirubină mono-glicuronid	mult scazută dar prezentă	prezent	Fără manifestări neurologice

Aşa cum este de aşteptat, heterozigoţii au o capacitate de glicuronoconjugare de aproximativ 50% din valorile normale, care este însă suficientă pentru a preveni instalarea hiperbilirubinemiei (21).

Alături de această formă de sindrom Crigler-Najjar cu deficit sever de glicuronoconjugare şi transmitere autosomal recesivă (Crigler-Najjar tip I) s-au descris şi deficite familiale de glicuronoconjugare mai puţin exprimate având mecanism de transmitere autosomal dominant cu penetranţă variabilă. În astfel de anomalii, cunoscute sub denumirea de sindrom Crigler-Najjar de tip II sau sindrom Arias, bilirubina neconjugată nu depăşeşte 20 mg/dl iar fenomenele neurologice lipsesc. Bila este pigmentată şi conţine bilirubină conjugată. În fragmentele de ţesut hepatic, activitatea bilirubinglicuroniltranferazei este mult redusă, dar nu complet absentă ca în cazul subiecţilor homozogoţi cu sindrom Crigler-Najjar tip I. Administrarea de fenobarbital induce această enzimă la subiecţii cu sindrom Crigler-Najjar tip II dar nu şi la homozigoţii cu sindrom Crigler-Najjar tip I (21).

Particularităţile anomaliilor cu caracter familial evoluând cu creşterea bilirubinei neconjugate sunt prezentate sintetic în tabelul 4.3.

4.2.4.3. ANOMALII GENETICE EVOLUÂND CU CREŞTEREA BILIRUBINEI CONJUGATE (SINDROMUL DUBIN-JOHNSON, SINDROMUL ROTOR, SINDROMUL STOCĂRII HEPATICE)

În toate sindroamele mai sus menţionate, creşterea bilirubinei conjugate în ser se asociază cu apariţia bilirubinei în urină (icter coluric), manifestările clinice sunt absente, iar nivelul seric al acizilor biliari şi activitatea enzimelor indicatoare ale colestazei precum şi testele uzuale de explorare a ficatului se află în limitele valorilor normale. Există însă o serie de particularităţi biochimice care diferenţiază aceste sindroame.

Astfel, în **sindromul Dubin-Johnson**, nivelul seric al bilirubinei conjugate este de 2-5 mg/dl, putând creşte uneori până la 15 mg/dl, iar subiecţii afectaţi prezintă totodată un deficit de eliminare în bilă a diferiţilor "anioni colefilici", cum sunt compuşii iodaţi utilizaţi pentru opacifierea căilor biliare (colecistografii şi colangiografii negative). La testul cu bromsulfonftaleină (BSP), retenţia colorantului se află la limita superioară a normalului (de regulă < 15%) după 45 de minute de la injectarea de BSP, dar ulterior, după 90-120 minute, se constată o "reîntoarcere" a colorantului în plasmă sub formă de BSP glicuronoconjugat. S-a dedus că procesele de captare, glicuronoconjugare şi captare hepatică a colorantului decurg normal, dar traversarea hepatică şi mecanismul de eliminare pe cale biliară a BSP-ului glicuronoconjugat sunt perturbate. Ca urmare, are loc un reflux relativ tardiv în sânge al colorantului glicuronoconjugat şi stocat în ficat dar neeliminat în bilă. Studiul sindromului Dubin-Johnson aduce astfel argumente pentru eliminarea în canaliculele biliare, prin acelaşi mecanism biologic energodependent, a bilirubinei conjugate, a BSP-ului conjugat şi a compuşilor iodaţi utilizaţi pentru opacifierea căilor biliare.

Deşi nivelul plasmatic al acizilor biliari nu este anormal crescut, testele de încărcare cu acizi biliari (acid ursodeoxicolic) denotă o moderată reducere a proceselor de captare hepatică şi de clearance a acestor anioni organici. Totodată administrarea de anticoncepţionale orale steroidice care interferă cu economia acizilor biliari accentuează anomaliile mecanismelor care asigură traversarea hepatică şi eliminarea în canaliculele biliare a bilirubinei conjugate, a BSP şi a substanţelor iodate de contrast. S-ar părea că, deşi compuşii mai sus amintiţi se elimină prin alt canal sau sistem de transport activ decât acizii biliari, există totuşi interferenţe funcţionale între cele două sisteme de transport.

Tabel 4.4.

Particularități clinice și de laborator în anomaliile genetice evoluând cu creșterea bilirubinei conjugate. În toate aceste cazuri pigmenții biliari apar în urină (icter coluric) iar probele hepatice uzuale, nivelul seric al acizilor biliari și enzimele indicatoare ale colestazei sunt în limite normale.

	Mod de transmitere	Nivelul bilirubinei	Colecistografia	Testul de BPS	Mecanism patogenic	Alte particularități
Sindrom Dubin-Johnson	autosomal recesiv	2-5 mg/dl (uneori până la 15 mg/dl) sub formă de diglicuronid	negativă	Retenție moderată (<15%) după 45 min.; creștere secundară la 120 min.	Defect de eliminare în bilă a bilirubinei conjugată și a altor anioni colefilici	Ficat încărcat cu un pigment de culoare închisă. Eliminarea prin urină a cuproporfirinei I (> 80% din totalul cuproporfirinelor urinare
Sindrom Rotor	autosomal recesiv	2-5 mg/dl (uneori până la 15 mg/dl) predomină monoglicuronidul	pozitivă	Retenție 25% după 45 min.; fără creșteri secundare	Predomină defectul de stocare	Ficat de aspect normal. Nu apar eliminări excesive de cuproporfină I în urină
Sindromul deficitului de stocare hepatică	neclar	2-7 mg/dl; predomină monoglicuronidul	se vizualizează o întârziere de până la 20 de ore	Retenție de cca. 36% fără creștere secundară	Deficit sever de stocare a bilirubinei conjugate	Ficat de aspect normal. Eliminări de porfirină I neconcludente

O anomalie care poate fi mai greu conectată la modificările mai sus amintite constă din eliminarea prin urină a coproporfirinei I (la normali eliminându-se doar mici cantităţi de coproporfirină III). Aspectul laparoscopic al ficatului este destul de caracteristic, având o coloraţie brun-închisă sau chiar neagră, iar examenul histochimic evidenţiază un pigment de culoare închisă localizat mai ales centrolobular şi având afinitate pentru unii coloranţi ai grăsimilor (Negru-Sudan, Oil-Red, dar nu şi Sudan IV).

Sindromul Rotor evoluează cu creşteri ale bilirubinei directe la valori similare cu cele din sindromul Dubin-Johnson, dar diferă de acesta prin aspectul laparascopic normal al ficatului, colangiografia pozitivă, procentul mai redus de coproporfirină I în urină, o retenţie de BSP de peste 25% la 45 de minute de la injectare, creşterea secundară în ser la 90-120 minute lipsind însă la aceşti subiecţi. Se consideră că, atât în acest sindrom, cât şi în mai puţin bine definitul **sindrom al stocării hepatice**, ar exista nu atât un defect în faza finală de eliminare a bilirubinei conjugate şi a BSP-ului cât mai ales un deficit al proceselor de stocare (21). În tabelul 4.4 sunt redate sinoptic principalele date referitoare la anomaliile genetice evoluând cu creşterea bilirubinei conjugate.

4.3. ACIZII BILIARI (FIZIOPATOLOGIE BIOCHIMICĂ)

Din punct de vedere chimic acizii biliari pot fi definiţi ca fiind acizi carboxilici conţinând de regulă 24 de atomi de carbon şi având o structură ciclopentanoperhidrofenatrenică (similară colesterolului din care derivă). Acizii biliari naturali sunt hidroxilaţi şi diferă între ei în funcţie de numărul şi poziţia grupărilor hidroxil (vezi fig.4.4).

Acizii biliari sintetizaţi în ficat pe seama colesterolului se numesc acizi biliari primari şi sunt secretaţi cu bila în duoden sub formă conjugată, fie cu glicocolul, fie cu taurina. Ei sunt reprezentaţi de acidul colic trihidroxilat (acid 3α, 7α, 12α trihidroxi-5 β colanoic) şi acidul chenodeoxicolic (acid 3α, 7α, dihidroxi-5 βcolanoic). Sub acţiunea florei microbiene din intestin, o parte din acizii biliari primari suferă un proces de 7α dehidroxilare şi se transformă în acizi biliari secundari, respectiv acid deoxicolic (acid 3α, 12α, dihidroxi-5β colanoic), derivat din acidul colic, şi acid litocolic (acid 3α, monohidroxi-5β colanoic).

De notat că acizii biliari sunt cu atât mai hidrosolubili cu cât au mai multe grupări hidroxil (grupări polare), iar acidul litocolic monohidroxilat are tendinţa să precipite, şi fixându-se pe resturile vegetale din intestin se elimină cu materiile fecale.

S-au descris şi aşa-zişii acizi biliari terţiari derivaţi prin transformarea la nivel hepatic a unor metaboliţi ai acizilor biliari reabsorbiţi din intestin. Aşa este de exemplu acidul ursodeoxicolic, format prin reducerea în hepatocite a unui metabolit colanic, acidul 7α-cetolitocolic, care devine hidroxilat în poziţiile 3 şi 7 fiind un stereoizomer al acidului chenodeoxicolic.

Este important de precizat de la bun început că spre deosebire de bilirubină care constituie un produs de deşeu şi se elimină prin fecale, acizii biliari exercită importante funcţii fiziologice în absorbţia lipidelor şi formarea fluxului biliar apos, fiind reabsorbiţi din intestin în proporţie de peste 95% (4,10,11,17).

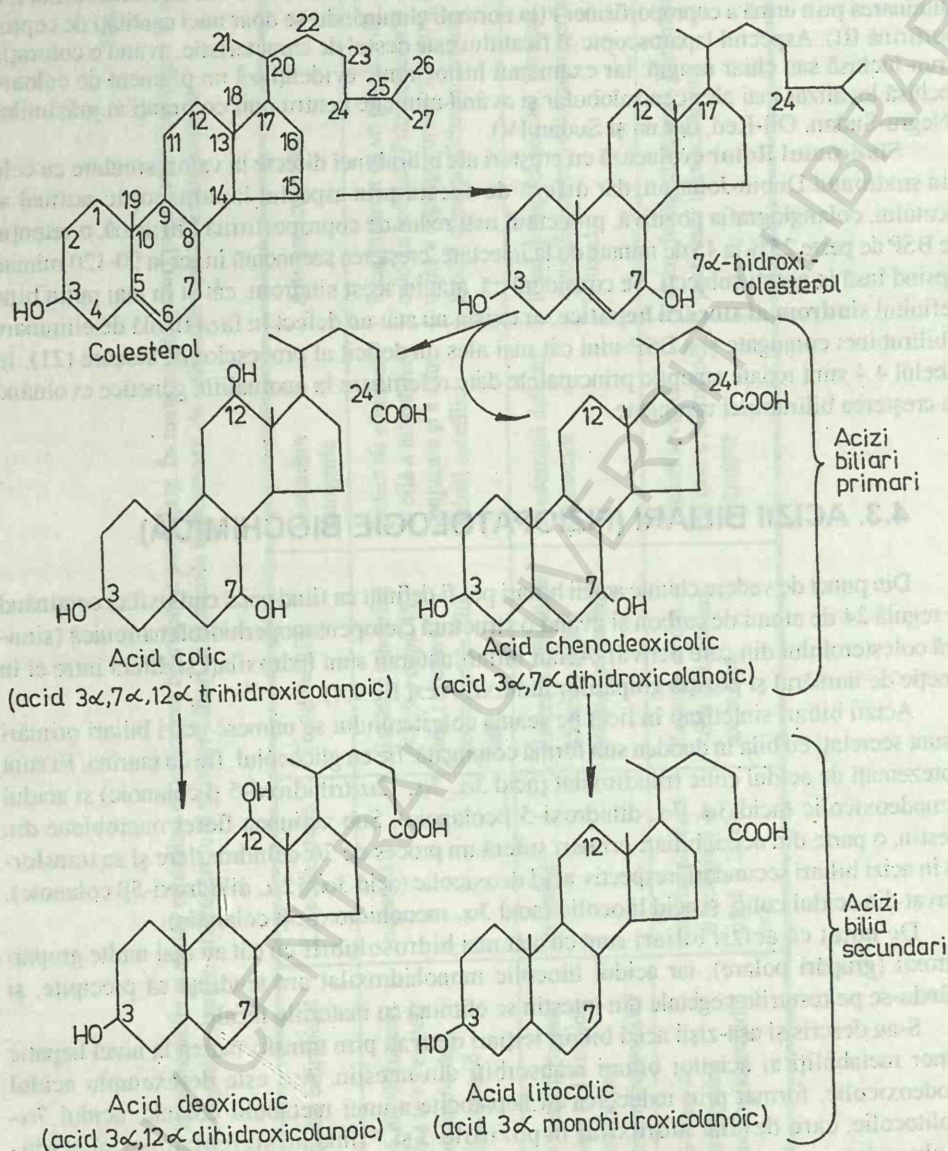


Fig.4.4. Structura acizilor biliari primari şi secundari. Se poate vedea provenienţa din colesterol a acizilor biliari. După o prealabilă hidroxilare în poziţia 7, urmează o serie de reacţii (nearătate în figură), în urma cărora 7α hidroxilcolesterolul cu 27 atomi de carbon se transformă în acizi biliari cu 24 atomi de carbon. Această transformare implică hidroxilări ale nucleului ciclopentanofenantrenic şi scurtarea catenei laterale, care prin repetate oxidări pierde trei atomi de carbon şi este carboxilată în poziţia 24. Sub acţiunea florei microbiene din intestin se produce o dehidroxilare în poziţia 7 şi rezultă acizii biliari secundari.

4.3.1. SINTEZA ACIZILOR BILIARI

Sinteza celor 300-500 mg de acizi biliari primari produşi zilnic în ficat porneşte de la colesterol. Sursa de colesterol a hepatocitelor este reprezentată de resturile de chilomicroni şi de lipoproteine plasmatice captate prin intermediul unor receptori specifici, precum şi de colesterolul sintetizat în ficat pornind de la acetil coenzimă A pe calea controlată de HMG-CoA reductaza (vezi capitolul 1).

Etapa iniţială a sintezei de acizi biliari implică hidroxilarea colesterolului în poziţia 7 sub acţiunea 7α colesterol hidroxilazei microsomiale, iar 7α hidroxicolesterolul rezultat adiţionează H la dubla legătură şi se transformă în produsul intermediar 3α, 7α dihidroxicoprostan. Tot la nivelul microsomilor o bună parte (aproximativ două treimi) a acestui produs se hidroxilează şi în poziţia 12, formând 3α, 7α, 12α trihidroxicoprostan.

În continuare la nivelul mitocondriilor au loc procese de oxidare ale lanţului lateral ce duc la scurtarea acestuia prin îndepărtarea carbonilor 27, 26 şi 25 şi la formarea radicalului carboxil la carbonul 24, rezultând astfel acidul colic şi respectiv acidul chenodeoxicolic (în proporţie de 2:1), prin conjugare cu glicocolul sau taurina se formează acizii glicocolic sau taurocolic, şi respectiv acizii glicochenodeoxicolic şi taurochenodoxicolic (vezi fig.4.4).

Reglarea sintezei de acizi biliari se exercită în funcţie de reabsorbţia lor din intestin pe cale portală. Această reglare va fi mai bine înţeleasă după prezentarea datelor privind circuitul enterohepatic al acizilor biliari.

4.3.2. CIRCUITUL ENTEROHEPATIC AL ACIZILOR BILIARI

Deversarea în canaliculele biliare a acizilor biliari sintetizaţi în hepatocite se efectuează printr-un mecanism de transport activ independent de secreţia bilirubinei. Ajunşi în bilă, acizii biliari formează micelii (agregate coloidale) cu colesterolul şi fosfolipidele, fiind deversaţi sub această formă în duoden.

La nivelul intestinului, acizii biliari tensioactivi facilitează emulsionarea şi absorbţia lipidelor şi implicit a vitaminelor liposolubile. În timp ce majoritatea lipidelor alimentare se absorb în jejun, reabsorbţia acizilor biliari (sub formă conjugată, deconjugată şi eventual parţial dehidroxilată) are loc la nivelul ileonului unde acţionează un mecanism de transport activ selectiv şi deosebit de eficient. Alături de acest mecanism specific din mucoasa ileonului mai intervine şi un proces de absorbţie pasivă nespecifică, mai puţin eficient, dar acţionând pe întreaga suprafaţă a intestinului subţire şi a celui gros (vezi fig.4.2). Ansamblul acestor mecanisme asigură o reabsorbţie de 95-98% a acizilor biliari deversaţi în intestin.

Sub acţiunea florei microbiene din porţiunea terminală a ileonului şi colonului, o proporţie variabilă de acizi biliari nereabsorbiţi anterior sub formă conjugată suferă un proces de deconjugare, iar acizii biliari, desprinşi din combinaţiile cu glicocolul sau taurina pot fi dehidroxilaţi în poziţia 7 sub acţiunea 7α-dehidroxilaze bacteriene. Acidul deoxicolic cu două grupări hidroxil se reabsoarbe împreună cu acidul colic din care provine, şi cu acidul chenodeoxicolic, pe când acidul litocolic monohidroxilat, mai hidrofob, are tendinţa să precipite, fixându-se pe fibrele vegetale.

Se poate afirma deci că soarta acizilor biliari din intestin depinde de următorii principali factori:

a. particularităţile şi eficienţa mecanismelor implicate în reabsorbţie;
b. efectele exercitate de flora microbiană;
c.proprietăţile fizico-chimice ale diverşilor acizii biliari;
d.proporţia de resturi alimentare nedigerate;
e.viteza tranzitului intestinal.

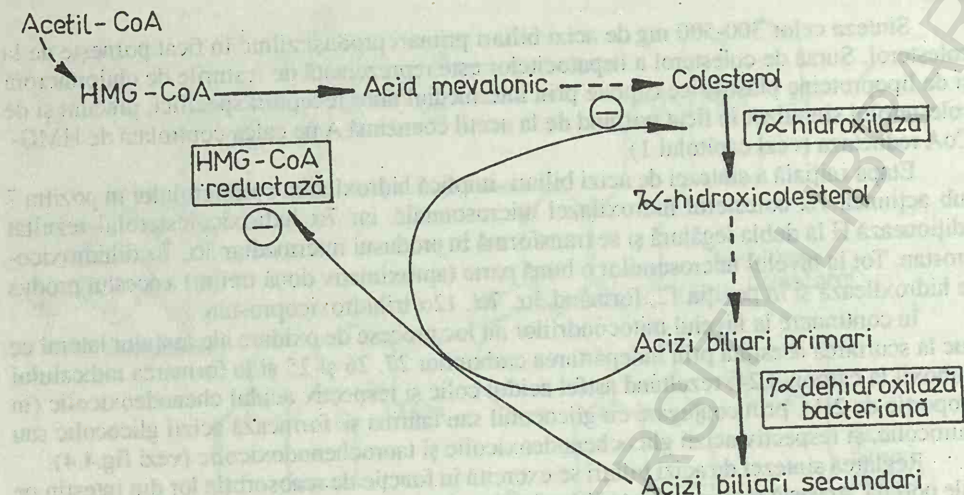


Fig.4.5. Reglarea sintezei de acizi biliari, cuplată cu reglarea sintezei de colesterol se efectuează prin efectul de represie, exercitat de acizii biliari primari şi secundari reabsorbiţi din intestin asupra enzimelor HMGCoA reductază şi 7α colesterolhidroxilază. Semnul ⊖ indică represia enzimelor (feed-back negativ). De notat că acidul deoxicolic inhibă cu precădere sinteza acidului chenodeoxicolic.

Tabel 4.5.

Efectul diferitelor procedee experimentale asupra activităţilor HMG-CoA reductazei şi 7α colesterolhidroxilazei

	Administrarea de colestiramină sau drenaj biliar	Inaniţie	Administrarea de colesterol	Administrarea de acizi biliari	Fenobarbital	Tomatină	Cortisol	Tiroxină
HMG-CoA reductaza	creşte	scade	scade	scade	creşte	creşte	creşte	creşte lent
7α colesterolhidroxilaza	creşte	scade	creşte	scade	creşte	nemodificată	creşte	creşte rapid

Se poate deci considera că o alimentație mai bogată în resturi vegetale nedigerate, un tranzit intestinal accelerat și o populare microbiană a intestinului subțire vor reduce reabsorbția acizilor biliari. Oricum, chiar și în cazul unei reabsorbții optime din intestin, o cantitate de 300-700 mg acizii biliari se elimină zilnic prin fecale, această cantitate fiind înlocuită prin sinteză hepatică.

Ajunși în circulația portală, acizii biliari reabsorbiți din intestin sunt rapid captați de ficat, astfel încât doar cantități infime scapă prin venele suprahepatice în circulația sistemică. Eficiența captării hepatice a acizilor biliari se datorează unor receptori membranari specifici, cu afinitate mai mare pentru acizii biliari trihidroxilați și conjugați (respectiv acizii taurocolic și glicocolic) și o afinitate mai redusă față de acizii dihidroxilați și neconjugați (1,8,26). Acizii biliari captați în hepatocite sunt apoi deversați în canaliculele biliare, împreună cu cei nou sintetizați în ficat, prin mecanismul de transport activ amintit la începutul acestui subcapitol. Totodată, acizii biliari reabsorbiți din intestin și captați în ficat reglează printr-un mecanism de feed-back negativ sinteza hepatică a acestor detergenți biologici (10,11,12,17).

4.3.3. REGLAREA SINTEZEI DE ACIZI BILIARI

Accentuarea pierderilor de acizi biliari (drenaj biliar, tranzit accelerat, administrarea de colestiramină) stimulează sinteza hepatică a acestor detergenți biologici, în timp ce inaniția și implicit reducerea secreției biliare și a motilității intestinale se însoțesc de o scădere a sintezei de acizi biliari.

De fapt acizii biliari reabsorbiți din intestin reprimă enzimele cheie cu rol în producerea de acizi biliari primari în ficat, iar reducerea întoarcerii acizilor biliari pe cale portală duce la dereprimarea acestor enzime cheie, respectiv HMGCoA reductaza și 7α colesterol hidroxilaza. Sinteza acestor enzime și implicit accelerarea producției de acizi biliari este stimulată și pe cale hormonală de către hormonii tiroidieni și de către cortizol. Inductibilitatea celor două enzime mai sus amintite este demonstrată și prin creșterea activității lor după administrarea de fenobarbital, un binecunoscut agent inductor (vezi capitolul 3). În anumite condiții se poate realiza însă o disociere între activitățile celor două enzime (17). Așa de exemplu, administrarea alimentară de colesterol scade activitatea HMGCoA reductazei și crește activitatea 7α colesterol hidroxilazei, pe când ingestia de tomatină, un glicozid steroidic care inhibă absorbția de colesterol, dar nu și pe cea de acizi biliari are ca efect creșterea activității HMGCoA reductazei, dar nu influențează activitatea 7α colesterol hidroxilazei (vezi tabel 4.5. și fig.4.5).

4.3.4. ASPECTE CANTITATIVE ALE CIRCULAȚIEI ENTEROHEPATICE A ACIZILOR BILIARI. (NOȚIUNILE DE SECREȚIE, SINTEZĂ ȘI REZERVOR DE ACIZI BILIARI)

Rezervorul de acizi biliari poate fi definit ca fiind cantitatea de acizi biliari aflați în circulația enterohepatică (ficat, căi biliare, intestin și circulația portală). Acest rezervor (sau capital) de acizi biliari poate fi evaluat prin metoda diluției izotopice, administrându-se ^{14}C-acid glicocolic sau ^{3}H acid chenodeoxicolic și determinându-se apoi raportul dintre acizii biliari radioactivi și cei neradioactivi, raport care variază invers proporțional cu mărimea rezevorului de acizi biliari. Acest rezervor oscilează la subiecții normali între 2000-4000 mg și este circulat de mai multe ori în cursul zilei.

Numărul de cicluri enterohepatice pe 24 de ore coincide cu frecvența golirii vezicului biliare și implicit a reabsorbției acizilor biliari deversați în intestin. Întrucât cu prilejul fiecărui act alimentar

rezervorul biliar este recirculat de două ori, se consideră că în condiţiile unui regim cu trei mese principale pe zi, se ajunge la 6 cicluri enterohepatice pe 24 de ore.

Secreţia de acizi biliari reprezintă cantitatea totală de acizi biliari care trece prin canalul coledoc în decurs de 24 de ore. În condiţii de echilibru secreţia zilnică de acizi biliari este egală cu produsul între valoarea rezervorului de acizi biliari şi numărul de cicluri enterohepatice. De exemplu, în cazul unui rezervor de 3000 mg circulat de 6 ori (în cursul a trei mese principale), secreţia de acizi biliari va fi 3000 x 6 = 18,000 mg.

Sinteza de acizi biliari reprezintă doar o fracţiune a secreţiei, fiind menită să înlocuiască pierderile prin fecale. Valoarea numerică a sintezei este de 300-700 mg/zi şi reprezintă 15-20% din capitalul de acizi biliari, respectiv 2,5-3,5% din secreţia zilnică de acizi biliari.

4.3.5. ROLUL FIZIOLOGIC AL ACIZILOR BILIARI

Acizii biliari joacă un rol esenţial în formarea fluxului biliar apos, intervin în absorbţia lipidelor, precum şi în metabolismul lipidic şi exercită efecte asupra funcţiei colonului. Graţie structurii lor care asigură prezenţa de grupări polare (hidroxil şi carboxil) într-un plan şi grupări lipofile (CH_3, CH_2) în alt plan acizii biliari se comportă ca nişte detergenţi, putând forma complexe solubile micelare cu diverşi compuşi care în lipsa acizilor biliari ar fi insolubili în apă (de exemplu trigliceride şi colesterol).

4.3.5.1. ACIZII BILIARI ŞI FLUXUL BILIAR APOS

Menţinerea în suspensie a diferiţilor compuşi eliminaţi prin bilă şi asigurarea curgerii bilei prin arborele biliar este condiţionată de formarea unui flux biliar apos. Deplasarea apei din capilarele sanguine spre canaliculele biliare se face independent de gradientul presiunii hidrostatice, astfel încât bila continuă să se formeze şi să curgă prin canaliculele biliare chiar şi atunci când presiunea hidrostatică din ducturile biliare este mai mare decât cea din capilarele sinusoide. De fapt, fluxul biliar apos se formează mai ales prin atragerea apei în canaliculele biliare pe baza unui gradient osmotic, respectiv de către o presiune osmotică mai ridicată în canaliculele biliare. Avându-se în vedere corelaţia strictă între secreţia de acizi biliari şi volumul secreţiei biliare, se poate vorbi de un **flux biliar dependent de acizii biliari**.

Întrucât miceliile formate de acizii biliari cu fosfolipidele şi cu colesterolul variază ca dimensiuni între 11.000 şi 75.000 daltoni, este evident că presiunea osmotică va fi mai mare atunci când în canaliculele biliare se formează micelii de dimensiuni mai reduse dar în număr mai mare. Reamintim că presiunea osmotică depinde de numărul de particule din soluţie. În acest fel acizii biliari, în special cei dotaţi cu mai multe grupări polare (mai hidroxilaţi), aflaţi în bilă într-o concentraţie optimă vor forma micelii de dimensiuni mai reduse şi implicit mai numeroase, ceea ce asigură un gradient osmotic adecvat formării fluxului biliar apos.

În urma depleţiei rezervorului de acizi biliari curgerea bilei diminuă dar nu încetează cu desăvârşire. Acest fenomen sugerează existenţa unei **fracţiuni a fluxului biliar independentă de acizii biliari**, care în astfel de condiţii, este în mare parte asigurat de un transport activ de sodiu în canaliculele biliare. Ca şi în alte ţesuturi transportul de sodiu este activat de ATPaza Na/K dependentă, iar administrarea de bicarbonat de sodiu creşte fluxul biliar apos (vezi fig.4.6).

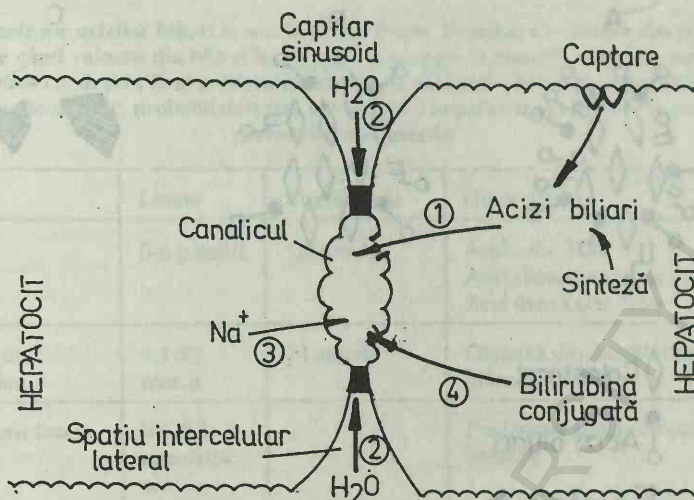


Fig.4.6. Mecanisme de formare a fluxului biliar apos:
1) Acizii biliari captaţi de hepatocite din circulaţia portală sau sintetizaţi în ficat se secretă activ în canaliculele biliare.
2) Printr-un efect osmotic se atrage apa în canalicule asigurând un flux biliar apos dependent de acizii biliari.
3) Un mecanism independent de acizii biliari se realizează prin transportul activ de sodiu în canaliculele biliare, care atrage apa prin acelaşi efect osmotic.
4) Bilirubina conjugată, BSP şi substanţele iodate de contrast se elimină în canalicule prin alt mecanism de transport, iar fluxul biliar apos asigură "spălarea"lor din canaliculele biliare şi curgerea bilei.

Intrucât secreţia biliară este stimulată de teofilină. un inhibitor al fosfodiesterazei, se consideră că acumularea intracelulară de AMP ciclic ar constitui un stimul pentru formarea fluxului biliar apos. S-a mai arătat că administrarea de fenobarbital, un agent inductor al oxidoreductazelor microsomale cu funcţii mixte (vezi capitolul 3). produce o creştere a secreţiei biliare, probabil prin favorizarea procesului de hidroxilare a acizilor biliari în microsomi (14,15).

4.3.5.2. ACIZII BILIARI ŞI METABOLISMUL LIPIDIC

Metabolismul acizilor biliari interferă cu cel al lipidelor sub mai multe aspecte:
1. Acizii biliari facilitează emulsionarea trigliceridelor şi potenţează hidroliza acestora sub acţiunea lipazei pancreatice.
2. Acizii biliari formează micelii şi cu produşii de lipoliză pe care îi menţin în soluţia apoasă. La nivelul suprafeţei microvilozitare a celulelor epiteliale ale jejunului produşii de lipoliză şi diverşi lipoizi se absorb iar acizii biliari desfăcuţi din micelii se reabsorb la nivelul ileonului.
3. În timp ce o parte a produşilor de lipoliză a trigliceridelor se poate absorbi şi în lipsa acizilor biliari, absorbţia vitaminelor liposolubile şi a colesterolului nu poate avea loc dacă nu se formează micelii cu acizii biliari.
4. Acizii biliari reprezintă principala cale de eliminare a colesterolului din organism.

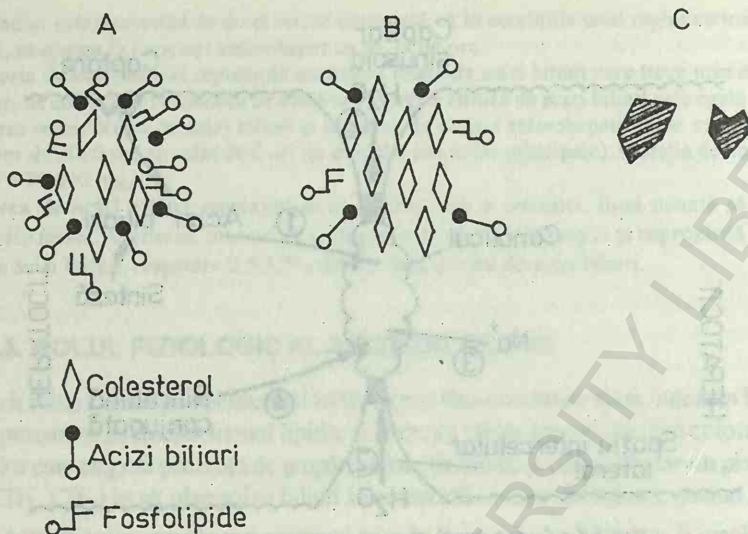


Fig.4.7. Structura miceliilor din bilă. A) Colesterolul, având o solubilitate redusă în mediu apos, este menţinut în soluţie graţie unui strat protector de acizi biliari şi fosfolipide, dotate cu grupări polare; B) În cazul unei creşteri a proporţiei de colesterol faţă de acizii biliari şi de fosfolipide, stabilitatea miceliilor scade, astfel încât C) colesterolul precipită sub formă de cristale şi duce la formarea calculilor biliari.

5. Acizii biliari reabsorbiţi exercită un efect de feed-back negativ asupra propriei lor sinteze pe seama colesterolului. Din acest motiv, creşterea eliminărilor fecale de acizi biliari (resturi vegetale, colestiramină, tranzit intestinal accelerat) sau drenajul biliar reduc efectul mai sus amintit şi accelerează transformarea colesterolului în acizi biliari, având acţiune hipocolesterolemiantă (vezi şi capitolul 1).

6. Acizii biliari menţin în soluţia micelară colesterolul din bilă prevenind precipitarea acestuia şi formarea de calculi biliari (vezi fig.4.7).

4.3.5.3. EFECTE ASUPRA FUNCŢIEI COLONULUI

Acizii biliari limitează reabsorbţia apei şi a electroliţilor la nivelul mucoasei colonului, putând fi astfel consideraţi ca adevăraţi laxativi fiziologici.Pe de altă parte, în cazul unei reabsorbţii reduse la nivelul ileonului, excesul de acizi biliari ajunşi în colon, şi în special formele deconjugate şi dehidroxilate exercită un efect iritant asupra mucoasei intestinului gros precum şi secreţia de apă şi electroliţi la acest nivel, determinând o diaree apoasă (10,17).

4.4. ACIZII BILIARI ÎN PATOLOGIE

Principalele anomalii în economia acizilor biliari cu repercusiuni în patologie pot fi clasificate în două mari categorii:

1) Anomalii caracterizate prin deficitul absolut sau relativ de acizi biliari:

Tabel 4.6.

Valori normale ale acizilor biliari în ser, în bilă şi fecale. De notat că valorile din ser sunt date în µmoli/l, pe când valorile din bilă şi fecale sunt exprimate în mmoli/l respectiv mmoli/24h. Se mai poate vedea că, deşi în ficat predomină sinteza de acid colic, în ser predomină concentraţia de acid chenodeoxicolic, probabil datorită unei captări hepatice mai eficiente a acidului colic reabsorbit din intestin.

	Limite	Valori medii	Observaţii
Ser	0-6 µmoli/l	1,6 µmoli/l	Acid colic 35% Acid chenodeoxicolic 43% Acid deoxicolic 22%
Bilă din duoden	4,1-30 mmoli	14 mmoli	Obţinută din duoden după un prânz de probă
Materii fecale	0,6-1,3 mmoli/24 ore	-	Predomină acizii deoxicolic şi litocolic

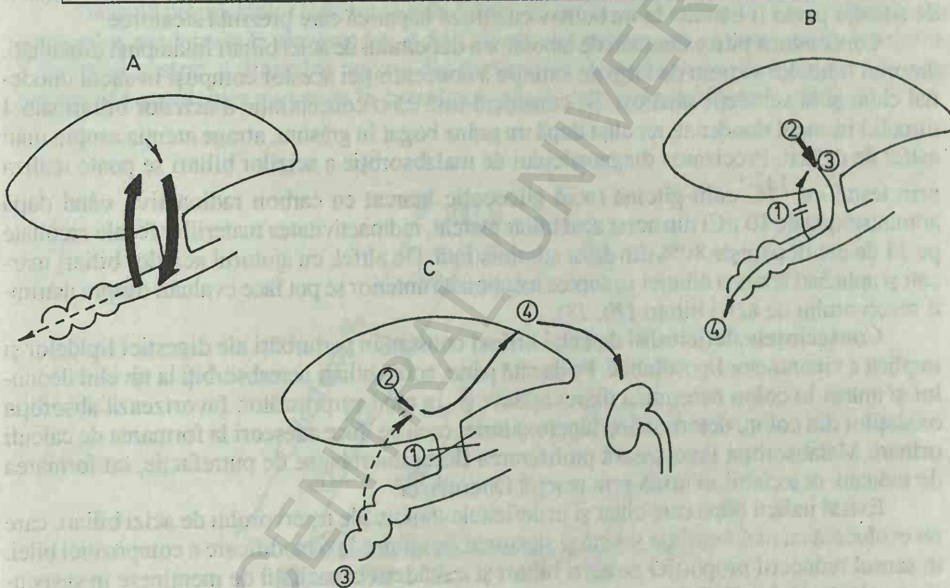


Fig.4.8. Reprezentarea schematică a unor anomalii în economia acizilor biliari:
A. Circuit enterohepatic normal (vezi fig. 4.2);
B. Perturbarea reabsorbţiei intestinale a acizilor biliari - 1; are drept urmare o accelerare a sintezei lor în ficat - 2; care nu poate însă compensa pierderile masive şi prelungite, şi implicit nu poate preveni scăderea capitalului de acizi biliari -3; ca urmare survine steatoreea, iar acizii biliari neabsorbiţi în ileon şi ajunşi în colon determină o diaree apoasă - 4.
C. În caz de colestază, curgerea bilei în intestin este mult limitată - 1; dereprimându-se sinteza - 2; perturbarea digestiei şi absorbţiei lipidelor duce la steatoree - 3; iar acizii biliari produşi în ficat şi nesecretaţi în bilă trec în sânge - 4; şi se elimină prin urină.

2) Efecte toxice exercitate de acizii biliari aflaţi "la locul nepotrivit", adică în afara circuitului enterohepatic. În tabelul 4.6. sunt redate valorile concentraţiilor de acizi biliari în ser, bilă şi fecale la subiecţii normali, iar în figura 4.8 se prezintă principalele anomalii survenite în economia acizilor biliari.

4.4.1. DEFICITUL DE ACIZI BILIARI

Scăderea rezervorului de acizi biliari poate surveni fie în caz de perturbare severă a reabsorbţiei lor din intestin, fie ca urmare a unei alterări severe a sintezei lor în ficat.

Deperdiţia de acizi biliari prin fecale se exagerează în boli ale ileonului însoţite de atrofia mucoasei, în caz de populare microbiană a intestinului subţire şi, bineînţeles, în rezecţiile de ileon. Fistulele biliare şi administrarea prelungită a sechestranţilor acizilor biliari (colestiramină, colestipol) pot duce de asemenea la diminuarea rezervorului de acizi biliari. Toate aceste mecanisme sunt parţial compensate de o accentuare a sintezei hepatice de acizi biliari, care poate fi însă depăşită în cazul unor pierderi importante şi persistente.

Având în vedere că ficatul este unicul organ care sintetizează acizi biliari, apare firesc ca în caz de **insuficienţă hepatică cronică** să se ajungă la o depleţie de acizi biliari. O astfel de situaţie poate fi bănuită la un bolnav cu ciroză hepatică care prezintă steatoree.

Confirmarea prin examinări de laborator a deficitului de acizi biliari întâmpină dificultăţi, datorită limitelor extrem de largi de variaţie a concentraţiei acestor compuşi în sucul duodenal chiar şi la subiecţii sănătoşi. Se consideră însă că o concentraţie a acizilor biliari sub 4 mmoli/l în sucul duodenal, recoltat după un prânz bogat în grăsimi, atrage atenţia asupra unui astfel de deficit. Precizarea diagnosticului de malabsorbţie a acizilor biliari se poate realiza prin testul cu ^{14}C colil-glicină (acid glicocolic marcat cu carbon radioactiv), când după administrarea de 10 μCi din acest acid biliar marcat, radioactivitatea materiilor fecale recoltate pe 24 de ore depăşeşte 80% din doza administrată. De altfel, cu ajutorul acizilor biliari marcaţi şi aplicând tehnica diluţiei izotopice menţionată anterior se pot face evaluări asupra mărimii rezervorului de acizi biliari (20, 28).

Consecinţele deficitului de acizi biliari constau în perturbări ale digestiei lipidelor şi implicit a vitaminelor liposolubile. Pe de altă parte, acizii biliari nereabsorbiţi la nivelul ileonului şi ajunşi în colon determină diarei apoase şi, în mod surprinzător, favorizează absorbţia oxalaţilor din colon, determinând hiperoxalurie, ceea ce duce adeseori la formarea de calculi urinari. Malabsorbţia favorizează proliferarea florei microbiene de putrefacţie, cu formarea de indican, detectabil în urină prin reacţia Obermayer.

Există indicii după care chiar şi în deficitele minore ale rezervorului de acizi biliari, care nu evoluează cu malabsorbţie severă şi steatoree, se ajunge la o modificare a compoziţiei bilei, în sensul reducerii proporţiei de acizi biliari şi a scăderii capacităţii de menţinere în suspensie a colesterolului din bilă.

4.4.2. ACIZII BILIARI ŞI LITIAZA BILIARĂ

Aşa cum s-a arătatat mai sus, colesterolul din bilă este menţinut în soluţie prin formarea de micelii cu acizii biliari şi fosfolipidele. Scăderea proporţiei de acizi biliari şi/sau fosfolipide precum şi creşterea proporţiei de colesterol din bilă favorizează precipitarea acestuia sub formă de cristale şi joacă un rol important in patogeneza litiazei biliare. Acest concept este ilustrat de modelul triunghiular conceput de Admirand şi Small (93) care permite evaluarea tendinţei de formare a calculozei colesterolice (vezi fig.4.9).

Studii clinice au arătat că de fapt bila pacienţilor cu litiază biliară este suprasaturată cu colesterol, faţă de un conţinut relativ mai redus de acizi biliari, iar studii cu acizi biliari marcaţi au demonstrat că rezervorul de acizi biliari al acestor bolnavi este mai redus. S-a mai observat că incidenţa litiazei biliare este evident mai crescută la bolanavii cu disfuncţii ale ileonului, la care pierderile cronice de acizi biliari prin scaun duc cu timpul la scăderea capitalului de acizi biliari. S-ar părea deci că reducerea capitalului de acizi biliari duce la dezvoltarea unei bile litogene, suprasaturată în colesterol. Această ipoteză şi-a găsit confirmarea în practica clinică, dovedindu-se că administrările de acid chenodeoxicolic (Chenofalk) în doze de 0,75-1,5 g/zi şi mărirea consecutivă a rezervorului de acizi biliari duce la dizolvarea calculilor biliari, în special a celor de dimensiuni mai reduse şi necalcificaţi.

Dezechilibrul între colesterolul şi acizii biliari din bilă nu constituie însă singurul factor implicat în patogeneza litiazei biliare, iar obezitatea, sexul feminin, hipotonia vezicii biliare şi procesele inflamatorii ale căilor biliare reprezintă importanţi factori de risc pentru dezvoltarea acestei boli (99,22).

4.4.3. TOXICITATEA ACIZILOR BILIARI

Datorită proprietăţilor tensioactive de detergenţi, acizii biliari exercită efecte toxice asupra ţesuturilor neadaptate la prezenţa lor. Acizii biliari sunt incriminaţi în patogeneza gastritelor, a ulcerului gastric, a diareilor apoase din disfuncţia ileonului, a pancreatitelor şi a unor manifestări patologice survenite în cursul colestazei, cum ar fi de exemplu pruritul.

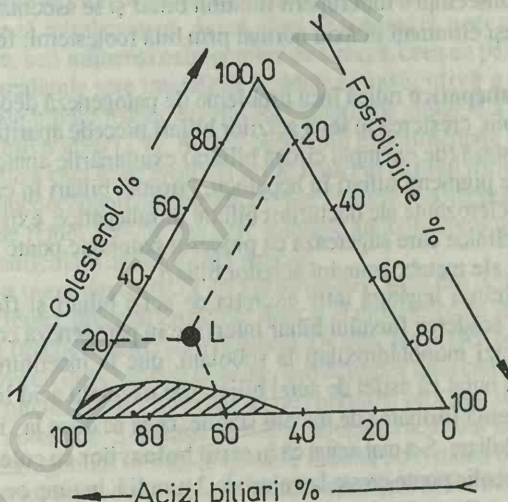


Fig.4.9. Diagramă triunghiulară utilizată pentru reprezentarea proporţiilor de acizi biliari, colesterol şi fosfolipide în bilă. Concentraţia fiecărui component (în mmoli/l) este exprimată ca un procent din total (Total - mmoli/l acizi biliari + mmoli/l colesterol + mmoli/l fosfolipide). Zona haşurată de la baza triunghiului echilateral reprezintă proporţii ale amestecului în care colesterolul este menţinut într-o soluţie micelară clară. Punctul L obţinut în condiţiile unor concentraţii procentuale de 20% colesterol, 20% fosfolipide şi 60% acizi biliari cade în afara zonei proporţiilor optime. Într-o astfel de **bilă litogenă**, colesterolul are tendinţa de a ieşi din soluţie, formând cristale şi favorizând apariţia calculilor biliari (după Admirand şi Small).

O menţiune specială ar trebui acordată rolului acizilor biliari în patogeneza bolilor pancreasului. De fapt injectarea experimentală de acizi biliari în ţesutul pancreatic sau instilarea lor in ductul pancreatic reproduce leziuni ale celulalor acinoase similare celor din pancreatita acută iar în cursul pancreatitelor acute de origine biliară se constată o creştere tranzitorie a acizilor biliari în sânge (7). Se poate deci sugera că la astfel de bolnavi prezentând calculi biliari, stricturi coledociene sau spasme ale sfincterului Oddi se produce o creştere a presiunii în căile biliare şi o refluare de bilă în ductul pancreatic (mai ales în cazurile prezentând o ampulă comună biliopancreatică). Se ajunge astfel la o lezare a acinilor pancreatici, sub acţiunea acizilor biliari tensioactivi, şi la o activare a fosfolipazei A_2 şi a lipazei pancreatice, având drept consecinţă o dezorganizare a membranelor celulare, o lipoliză a ţesutului adipos peripancreatic şi o edemaţiere a pancreasului. Dacă leziunile sunt deosebit de severe se ajunge la activarea proteazelor cu autodigestia organului şi dezvoltarea pancreatitei necroticohemoragice. Pe de altă parte, un nivel persistent crescut al acizilor biliari în sânge, aşa cum survine în ciroza biliară, ar putea contribui la instalarea fibrozei pancreatice (5,16).

4.4.4. ACIZII BILIARI ŞI COLESTAZA

Orice colestază evoluează cu creşterea nivelului seric al acizilor biliari de la valorile normale de 0-6 μmoli/l până la concentraţii de peste 100 μmoli/l.

În colestazele extrahepatice cauzate de o obstrucţie mecanică a coledocului, creşterea acizilor biliari este o consecinţă a întreruperii fluxului biliar şi se asociază de la bun început cu retenţia altor compuşi eliminaţi în mod normal prin bilă (colesterol, fosfolipide, bilirubina conjugată).

Colestazele intrahepatice ridică încă probleme de patogeneză deosebit de complexe, iar în perioadele de debut, creşterea în ser a acizilor biliari precede apariţia icterului. Deşi în stadii avansate de colestază (de exemplu ciroza biliară) examinările anatomopatologice evidenţiază acumularea de pigmenţi biliari în hepatocit, "trombi biliari în canalicule", precum şi leziuni inflamatorii sclerozante ale ducturilor biliare intrahepatice, există o serie de observaţii experimentale şi clinice care sugerează că procesul patologic poate fi iniţiat tocmai de către anumite anomalii ale metabolismului acizilor biliari.

1) Se cunoaşte strânsa legătură între excreţia de acizi biliari şi fluxul biliar apos în canaliculele biliare, iar scăderea fluxului biliar intervine în patogeneza colestazei.

2) Infuziile de acizi monohidroxilaţi la şobolani, duc la încetinirea şi chiar oprirea fluxului biliar apos. De notat că astfel de acizi biliari (de exemplu acid litocolic) au o solubilitate redusă şi nu asigură formarea de micelii stabile, ceea ce duce la "înnoroirea bilei" în canaliculele şi ducturile biliare. S-a mai arătat că în serul bolnavilor cu colestază intrahepatică concentraţia de acid litocolic poate creşte la valori de 2 μmoli/l, în timp ce în serul subiecţilor sănătoşi sau chiar în cazurile de hepatită fără componentă colestatică acest acid biliar monohidroxilat nu poate fi decelat. Se poate deci bănui că o perturbare în procesul de hidroxilare al acizilor biliari şi o acumulare de compuşi monohidroxilaţi intervine în patogeneza reducerii fluxului biliar apos (4).

3) Administrarea de α naftilizotiocianat (ANIT), o substanţă care diminuează activitatea enzimelor microsomale, provoacă fenomene de colestază la animale de experienţă. De notat că la nivelul microsomilor celulelor hepatice are loc procesul de hidroxilare a acizilor biliari şi de conjugare a acestora cu glicocolul sau cu taurina. Este posibil ca fenomenele de colestază

observate în patologia clinică după adminstrarea unor medicamente, ca de exemplu fenotiazinele, să se datoreze perturbării activității enzimelor microsomale.

4) Administrarea de fenobarbital, un binecunoscut agent inductor care amplifică activitatea enzimelor microsomale (vezi capitolul 3), produce în multe cazuri o ameliorare a colestazei.

5) Cercetări recente au fost în măsură să demonstreze că administrările de acizi biliari (acid ursodeoxicolic, acid chenodeoxicolic) duc la o creștere a fluxului biliar și la o ameliorare a colestazei. Astfel de observații constituie o verificare în practică a concepției privind rolul anomaliilor în metabolismul și/sau economia acizilor biliari pentru patogeneza colestazei intrahepatice (24).

6) Colestaza intrahepatică progresivă (boala Byler) furnizează un exemplu ilustrativ de colestază consecutivă unei anomalii genetice în economia acizilor biliari. Boala debutează în prima copilărie, evoluează cu steatoree, hepatomegalie, hipotrofie staturală, rahitism, creșterea exprimată a nivelului seric de acizi biliari și prurit intens, sfârșind prin deces înaintea vârstei de 8 ani. Mecanismul patogen constă din deficitul genetic de sinteză al unei proteine transportoare care asigură transferul acizilor biliari din hepatocite în canaliculele biliare. De remarcat că icterul, respectiv creșterea bilirubinei conjugate, apare la un interval de timp variabil de la creșterea în sânge a acizilor biliari. Această particularitate dovedește că:
a. excreția în canaliculele biliare a acizilor biliari și a bilirubinei conjugate se efectuează prin mecanisme de transport diferite și
b. icterul se dezvoltă în aceste cazuri ca o consecință a deficitului de excreție al acizilor biliari și implicit scăderii fluxului biliar apos (4,13).

7) Administrarea de etinilestradiol determină la șobolan o reducere a fluxului biliar apos și implicit o colestază intrahepatică. Acest efect se datorează unei creșteri a permeabilității canaliculelor biliare, sub influența estrogenilor de sinteză, ceea ce permite difuzarea acizilor biliari din aceste canalicule spre interstițiu. Scăderea consecutivă a concentrației acizilor biliari în canaliculele biliare reduce efectul lor osmotic de atragere a apei în canalicule și de formare a fluxului biliar apos (2,4). Aceste observații experimentale își găsesc un corespondent clinic în colestaza care se dezvoltă la unele femei în ultimul trimestru de graviditate sau după folosirea de anticoncepționale steroidice orale. Întrucât fenomenele de colestază apar doar la un mic procent de femei gravide sau care folosesc anticoncepționalele orale, se bănuiește o susceptibilitate particulară condiționată genetic.

8) Recent s-a putut demonstra că aproximativ 84% din bolnavii cu ciroză biliară primitivă, mai ales femei, prezintă un deficit marcat al proceselor de sulfoxidare care se repercută negativ asupra funcției antitoxice a ficatului. De fapt, reducerea producției de sulfat anorganic endogen, provenit din oxidarea cisteinei sub acțiunea unei cisteinoxidaze (din sistemul oxidoreductazelor microsomale cu funcții mixte) perturbă procesul de sulfoconjugare a unor metaboliți cu efect colestatic. S-a arătat că sulfoconjugarea acidului litocolic și a unor produși de metabolism ai estrogenilor le reduce în mare măsură activitatea colestatică (18).

În lumina datelor prezentate mai sus rezultă că anomalii în hidroxilarea acizilor biliari și în transportul lor din hepatocite spre canaliculele biliare, sau difuzarea acestor detergenți biologici din canalicule spre interstițiu, are drept urmare o scădere a fluxului biliar apos și o încetinire a secreției de acizi biliari, a căror concentrație scade în bilă dar crește în hepatocite și în ser. Scăderea fluxului biliar apos duce la înnoroirea bilei în canalicule, unde se formează "trombi biliari" stagnanți, ajungându-se la lezarea microvililor din canaliculele biliare.

Acizii biliari tensioactivi acumulați în interstiții dizolvă fragmente din membrana plasmatică a hepatocitelor, aceste fragmente trecând în plasmă împreună cu unele enzime membranale, ca de exemplu fosfataza alcalină și γ-glutamil transferaza. Creșterea acestor enzime

indicatoare ale colestazei se realizează însă şi printr-un proces de inducere (vezi capitolul 3). Cu timpul este afectată şi eliminarea bilirubinei conjugate, astfel încât sindroamele colestatice evoluând la început doar cu creşterea nivelului seric al acizilor biliari şi a enzimelor indicatoare ale colestazei, ajung să dezvolte icter. Totodată, funcţia hepatocitelor se alterează progresiv, iar prin înlocuirea parenchimului hepatic cu ţesut fibros şi dezorganizarea arhitecturii ficatului se ajunge la aspecte de ciroză biliară (4,8,12,15).

Datele privind rolul anomaliilor în economia acizilor biliari, având drept efect reducerea fluxului biliar apos nu acoperă decât parţial complexitatea mecanismelor ce intervin în patogeneza colestazei intrahepatice. De fapt, la mecanismele amintite se pot adăuga procese inflamatorii care duc la comprimarea ducturilor biliare şi la lezarea acestor ducturi care se fibrozează. S-au demonstrat şi interferenţe mai subtile între procesele inflamatorii şi economia acizilor biliari. Aşa de exemplu, factorul de necroză tumoral (TNF) inhibă captarea acizilor biliari de către hepatocitele în cultură, fenomen care sugerează că această citokină proinflamatorie este un important mediator al colestazei survenite în stările septice (28). Se ştie de asemenea că în ciroza biliară primitivă se constată frecvent anomalii imunologice, cum sunt creşterea imunoglobulinelor M (IgM), prezenţa în ser a anticorpilor antimitocondriali şi scăderea activităţii in vitro a limfocitelor T supresoare. Mecanismele prin care aceste anomalii ale imunităţii ar putea interveni în dezvoltarea cirozei biliare sunt încă neclare, iar rolul lor în iniţierea procesului patologic nu a fost încă dovedit cu certitudine (15).

4.4.5. ACIZII BILIARI CA TEST DE EXPLORARE FUNCŢIONALĂ A FICATULUI

Nivelul seric al acizilor biliari poate să crească nu numai în cazul colestazei ci şi ca urmare a insuficienţei hepatice. Deşi ficatul este singurul organ care sintetizează acizi biliari, leziunile hepatice afectează în mai mare măsură procesul de captare hepatică a acizilor biliari reabsorbiţi din intestin decât sinteza lor. Ca urmare, acizii biliari reabsorbiţi din intestin şi necaptaţi în hepatocite trec prin venele suprahepatice în circulaţia sistemică, nivelul lor fiind oarecum paralel cu gravitatea insuficienţei hepatice. Astfel, în timp ce în urma colestazei cresc în ser mai mult acizii biliari primari neeliminaţi prin bilă în intestin, în insuficienţa hepatică se constată o creştere proporţional mai mare a acizilor biliari secundari. O astfel de diferenţiere a tipului de acizi biliari care cresc în ser implică însă investigaţii cromatografice complexe şi nu contribuie în mod decisiv la diferenţierea colestazei faţă de o insuficienţă hepatică, cu atât mai mult cu cât cele două procese patologice se pot asocia. Asupra valorii diagnostice a determinărilor de acizi biliari în bolile ficatului se va reveni în capitolul următor.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1.Accatino,L., Simon,F.R. Indentification and characterisation of a bile acid receptor in isolated liver cells surface membranes. J.Clin.Invest, 1976, 57: 496-508.

2.Accatino,L., Figueroa,C., Pizzaro,M., Solis,N. Enhanced biliary excretion of canalicular membrane enzymes in estrogen-induced and obstructive cholestasis, and effects of different bile acids on the isolated perfused rat liver. J.Hepatology, 1995, 22: 658-670.

3.Admirand,W.H., Small,D.M. The physicochemical basis of cholesterol gallstone formation in man, J.Clin.Invest, 1968, 47: 1043-1052.

4.Berk,P.D., Javitt N.B. Hyperbilirubinemia and cholestasis. Amer.J.Med., 1978, 64: 311-326.

5.Creutzfeld,W., Schmidt,H. Aetiology and pathogenesis of pancreatitis (current concepts). Scand.J.Gastroenterol, 1970, 5 (suppl 6), 47-62.
6. Cucuianu,M., Olinic,N., Goia,N., Fekete,T. Biochimie clinică, col.II, Editura Dacia, Cluj, 1979.
7.Cucuianu,M., Ionescu,N.G., Vulcu,V., Trif,I. Transient elevation of serum bile acids during acute pancreatitis. International Journal of Pancreatology, 1988, 3: 151-156.
8.De Caestecker,J.S., Jazrawi,R.P., Nisbett,J.A., Joseph, A.E., Maxwell,J.D., Northfield,T.C. Direct assessment of the mechanism for a raised serum bile acid level in chronic liver disease. Eur.J.Gastroenterology and Hepatology, 1995, 7: 955-961.
9.Dumitrescu,D., Acalovschi,M., Grigorescu,M. Litiaza biliară, Editura Academiei Bucureşti, 1989.
10.Grigorescu,M., Tăpălagă,D., Dumitraşcu,D. Patologia clinică a acizilor biliari, Editura Dacia, Cluj, 1983.
11.Hoffman,A.F. The enterohepatic circulation of bile acids in man, Clin.Gastroenterol, 1977, 6: 3-24.
12.Iwamura,K. Bile acid metabolism and liver disease. Das medizinische Prisma Boehriger Ingelheim, 1982, 3, 3-27.
13.Jacquemin,E., Dumont,M., Bernard,O., Erlinger,S., Hadchouel,M. Evidence for defective primary bile acid secretion in children with progresive familial intrahepatic cholestasis (Byler disease). Eur.J.Pediatrics, 1994, 153, 424-428.
14.Javitt,N.B. Hepatic bile formation. N.Engl.J.Med, 1976, 295, 1464-1469; 1511-1516.
15.Kaplan,M.M. Primary biliary cirrhosis. N.Engl.J.Med, 1987, 316, 521-528.
16.Kless,H.J., Braganza,J.M., Warnes,T.W. Pancreas in primary biliary cirrhosis. Gut., 1980, 21, A 448.
17.Mattern,S., Hackenschmidt,J., Black,P., Grok,W. Advances in bile acid research. F.K.Schattauer, Stuttgart - New York, 1975.
18.Olomu,A.B., Vickers,C.R., Waring,R.H., Clemens,D., Babbs,C. Warnes,T.W., Elias,E. High incidence of poor sulfoxidation in patients with primary biliary cirrhosis. N.Engl.J.Med, 1988, 318, 1089-1092.
19.Read,N.W., Corbett,C.R. The function of the gastrointestinal tract and its laboratory assessment in Williams and Marks (Editors), Biochemistry in clinical practice, William Heineman Medical Books limited, London, 1983, 67-95.
20.Scarpello,J.B.H., Sladen,G.E. Appraisal of the ^{14}C glycocholate acid test with special reference to the measurement of the faecal excretion. Gut. 1977, 18, 742-748.
21.Schmid,R. Hyperbilirubinemia in Stanburry, Wyngaarden, Friderickkson (Editors). The metabolic basis of inherited disease, McGrow Hill New York, 1979.
22.Schoenfield,L.J., Lachin,J.M. Chenodiol (chenodeoxycholic acid) for dissolution of gallstones: the National Cooperation Gallstone Study.Ann.Intern.Med, 1981, 95, 257-282.
23.Scherwin,W.E. Liver function in Kaplan and Pesce (Editors), Clinical Chemistry, C.W.Mosby Company, St.Louis Toronto Princenton, 1984, 421-438.
24.Stiehl,A. Gallensauren bei Lebererkrankungen; Therapeutische Umschau, 1995, 52, 682-686.
25.Tapalagă,D., Opincaru,A., Cucuianu,M. Hepatic secretion enzymes and electrophoretic lipoprotein fractions in lever disease. Acta Hepato-Gastroenterol, 1979, 26, 9-16.
26.Thjodleifsson,B., Barnes,S., Chitranukrou,A., Billing,B.H., Sherlock,S. Assessement of the plasma disapearance of cholyl-l-^{14}C glycine as a test of hepatocellular disease, Gut. 1977, 18, 697-702.
27.Vales,T. Severe neonatal jaundice associated with glucoso-6-phosphate dehydrogenase deficiency: pathogenesis and global epidemiology (Review) Acta Pediatrica Supplement, 1994, 394, 58-76.
28.Whiting,J.F., Green,R.M., Rosenbluth,A.B., Gollan,J.L. Tumor necrosis factor alpha decreases hepatocyte bile salt uptake and mediates endotoxin-induced cholestasis, Hepatology, 1995, 22, 1273-1278.
29.Wintrobe,M.M. Clinical Hematology, Lea Febiger Philadelphia, 1974.

ÎNTREBĂRI DE CONTROL

1. Sursele de bilirubină pot fi reprezentate de:
A. Hemoglobina hematiilor îmbătrânite
B. Unele hemoproteine hepatice (citocromi, oxidaze etc.)
C. Hemoliza intramedulară a unor elemente tinere din seria roşie
D. Toate aceste surse.

2. În care din stările patologice de mai jos nu se poate decela urobilinogen în urina emisă între orele 14-16 ?
A. Icter hemolitic
B. Hepatită cronică evoluând cu icter
C. Proliferare microbiană în ileon
D. Neoplasm de cap de pancreas care produce o obstrucţie completă a coledocului.

3. Hiperbilirubinemia severă la un nou născut (valori de 16-20 mg/dl) poate fi cauzată de:
A. Un proces de hemoliză prin incompatibilitate de Rh
B. Un deficit de captare a bilirubinei neconjugate de către hepatocite
C. Un deficit de glicuronoconjugare
D. Toate aceste procese contribuie.

4. În care din stările patologice de mai jos nu se constată prezenţa de pigmenţi biliari (bilirubină) în urină:
A. Icter hemolitic
B. Sindrom Dubin-Johnson
C. Icter mecanic
D. Hepatita acută cu fenomene de colestază şi scaun decolorat
E. Sindrom Gilbert

5. Stabiliţi corespondenţa între afecţiunile determinate genetic amintite mai jos şi câteva particularităţi clinice şi de laborator mai caracteristice:

A. Sindrom Gilbert	I. Hiperbilirubinemie indirectă moderată care se accentuează după un post de 48 de ore
B. Sindrom Crigler-Najjar tip I	II. Evoluează cu creşteri excesive ale bilirubinei neconjugate care pot cauza leziuni ale sistemului nervos (icter nuclear)
C. Sindrom Dubin-Johnson	III. Creşterea acizilor biliari în ser, prurit intens, steatoree, hipotrofie staturală, rahitism
D. Boala Byler	IV. Hiperbilirubinemie conjugată, eliminări urinare de coproporfirină I, la testul cu BSP retenţie moderată a colorantului la 45 de minute, urmată de o creştere a concentraţiei de BSP în ser după 120 minute

6. Stabiliți corespondența între condițiile experimentale de mai jos şi efectul lor asupra activității HMG CoA reductazei şi 7α colesterolhidroxilazei.

A. Drenajul biliar sau administrarea de colestiramină	I. HMG CoA reductaza creşte; 7α colesterolhidroxilază nemodificată
B. Inaniție	II. Activitatea ambelor enzime creşte
C. Administrare de colesterol	III. HMG CoA reductaza scade; 7α colesterolhidroxilază creşte
D. Administrarea de tomatină	IV. Activitatea ambelor enzime scade.

7. Care din compuşii de mai jos pot cauza o reducere a fluxului biliar apos având drept consecință apariția fenomenelor de colestază:
A. Etinilestradiol
B. α-naftilizotiocianat (ANIT)
C.Acidul litocolic
D. Toți aceşti compuşi.

8. O bolnavă de 40 de ani, palidă, operată în urmă cu 4 ani, pentru un chist ovarian, prezintă bilirubină neconjugată 2,8 mg/dl; bilirubină conjugată 0,2 mg/dl; hemoglobină 9 g/dl; în urină urobilinogen pozitiv; pigmenți negativi, transaminaze în limite normale.

I. Ansamblul acestor date sugerează:
A. un icter hemolitic;
B. un icter mecanic;
C. o hepatită acută virală subicterică.
II. Care din investigațiile de mai jos ar putea să fie frecvent modificate la mulți subiecți cu un astfel de icter:
a) creşterea reticulocitelor;
b) creşterea sideremiei;
c) test Coombs pozitiv;
d) scăderea haptoglobinelor serice;
e) creşterea acizilor biliari în ser;
f) creşterea fosfatazei alcaline şi γ -glutamiltransferazei.

9. Cum considerați că ar fi survenit în realitate secvența fenomenelor indicate mai jos la o bolnavă de 39 de ani care a utilizat timp îndelungat anticoncepționale steroidice orale și fenotiazină, ajungând să dezvolte fenomene de colestază:
A. Dezvoltarea unei ciroze biliare
B. Perturbarea proceselor de hidroxilare microsomală a acizilor biliari sau defecte de transport ale acizilor biliari în canaliculele biliare
C. Scăderea fluxului biliar apos și înnoroirea bilei în ducturile biliare
D. Creşterea bilirubinei conjugate în ser

10. Întreruperea circuitului enterohepatic al acizilor biliari (de exemplu după rezecția ileonului) poate avea ca urmare:
A. Perturbarea absorbției grăsimilor și steatoree
B. Diarei apoase
C. O absorbție crescută de acid oxalic la nivelul mucoasei iritate a colonului și risc de litiază urinară (calculi de oxalați)
D. Toate aceste manifestări patologice
E. Apariția acestor fenomene la un bolnav cu rezecție de ileon este întâmplătoare și fără legătură cu întreruperea circuitului enterohepatic al acizilor biliari

11. Popularea microbiană a intestinului subțire (de exemplu sindrom de ansă oarbă) poate duce la:
A. Degradare accelerată a acizilor biliari
B. Formare sporită de urobilinogeni din bilirubină
C. Ambele procese
D. Popularea microbiană a intestinului subțire nu are efecte asupra pigmenților și acizilor biliari

12. Apariția unui sindrom icteric în cursul evoluției bolii Byler se datorează:
A. Faptului că atât bilirubina conjugată cât și acizii biliari se elimină prin intermediul aceluiași mecanism de transport activ
B. În boala Byler există un deficit de glicuronoconjugare
C. Defectul primar în excreția acizilor biliari în canaliculele biliare duce la diminuarea fluxului biliar apos, ceea ce se repercută asupra drenării și "spălării" bilirubinei conjugate din canaliculele biliare
D. Toate aceste mecanisme contribuie la creșterea bilirubinei conjugate.

13. Precizați care din afirmațiile de mai jos sunt corecte:
A. Hemoproteinele hepatice reprezintă principala sursă de bilirubină în organismul uman
B. Icterul hemolitic se caracterizează prin creșterea accentuată a fosfatazei alcaline
C. Concentrații ale bilirubinei conjugate de 20 mg/dl sunt toxice pentru sistemul nervos
D. Sindromul Gilbert prezintă risc de icter nuclear
E. Drenajul biliar și colestiramina duc la scăderea activității 7α colesterolhidroxilazei și HMGCoA reductazei
F. Nivelul seric al acizilor biliari crește evident atât în sindroamele colestatice cât și în insuficiența hepatică severă.

14. Stabiliţi care din afirmaţiile de mai jos sunt corecte şi eventual legate cauzal, notându-se cu:
a = ambele afirmaţii corecte şi legate cauzal;
b = ambele afirmaţii corecte dar nelegate cauzal;
c = prima afirmaţie corectă şi a doua afirmaţie incorectă;
d = prima afirmaţie incorectă şi a doua afirmaţie corectă;
e = ambele afirmaţii incorecte

I. Valori ale bilirubinei neconjugate de peste 20 mg/dl la un nou născut prezintă risc de icter nuclear **deoarece** această formă de bilirubină este liposolubilă

II. Bilirubina neconjugată creşte mult în sindromul Crigler-Najjar **deoarece** acizii biliari sunt evident crescuţi în serul acestor bolnavi.

III. Drenajul biliar duce la o scădere a activităţii 7α colesterolhidroxilazei **deoarece** acizii biliari sunt sintetizaţi în ficat din colesterol

IV. În colestaza intrahepatică prelungită se ajunge la creşterea nivelelor serice de acizi biliari şi de bilirubină conjugată **deoarece** ambii compuşi se excretă în canaliculele biliare prin acelaşi mecanism de transport.

V. Creşterea raportului colesterol:acizi biliari în bilă predispune la litiază biliară **deoarece** bilirubina produsă în macrofage şi captată în ficat suferă un proces de glicuronoconjugare.

5. BAZELE FIZIOPATOLOGICE ALE EXPLORĂRII FUNCȚIILOR FICATULUI

Numeroasele teste de explorare biochimică a funcţiilor hepatice au valoare diagnostică doar dacă sunt bine fundamentate din punct de vedere fiziopatologic şi dacă sunt interpretate în context cu datele clinice.

Aceste teste îşi găsesc utilitatea pentru:
a. diagnosticul pozitiv şi diferenţial al icterelor şi în general al diverselor boli ale ficatului;
b. aprecierea gravităţii unei suferinţe hepatice şi implicit stabilirea prognosticului;
c. evaluarea eficacităţii terapiei.

În funcţie de procesul patologic pe care îl decelează cu predominanţă, probele biochimice de explorare a ficatului pot fi împărţite în următoarele categorii:
1. Probe de laborator care semnalează existenţa unui proces inflamator cronic în mezenchimul hepatic şi care corespund pe plan morfologic unor infiltraţii limfoplasmocitare în interstiţiu;
2. Teste biochimice care indică o creştere a permeabilităţii membranei hepatocitelor;
3. Investigaţii care decelează o insuficienţă funcţională a ficatului;
4. Probe care denotă existenţa unei colestaze.

5.1. TESTE CARE REFLECTĂ O INFLAMAȚIE CRONICĂ ÎN SPAȚIUL INTERSTIȚIAL

Infiltraţia limfoplasmocitară în spaţiile Kiernan din ficat, asociată de cele mai multe ori cu creşterea aceloraşi celule în splină şi măduva osoasă se traduce prin nivelele serice crescute ale imunoglobulinelor. Întrucât creşterea amintită interesează, de regulă, mai multe clase de imunoglobuline, se ajunge la o aşa zisă hiperimunoglobulinemie policlonală (fracţiunea electroforetică gama crescută sub formă de clopot cu baza în jos).

Gradul de creştere a imunoglobulinelor şi respectiv al fracţiunii electroforetice gama depinde într-o oarecare măsură de extensia şi tendinţa la progresiune a procesului inflamator cronic, creşterea fiind evident mai accentuată într-o hepatită cronică progresivă, când infiltratele limfoplasmocitare din spaţiile portale se extind spre şi între cordoanele de hepatocite.

În hepatita acută, creşterea imunoglobulinelor şi respectiv a fracţiunii electroforetice gama este variabilă, în funcţie de durata bolii şi de răspunsul individual la infecţia virală. De regulă, astfel de creşteri nu sunt atât de accentuate ca într-o hepatită cronică şi se caracterizează mai ales printr-un nivel ridicat de IgM.

Se consideră că în hepatita cronică de natură virală ar creşte mai ales IgG, în cirozele biliare creşterea ar interesa cu predominanţă IgM, iar în ciroza alcoolică ar surveni o creştere a IgA (23). S-au mai semnalat prezenţa de anticorpi antimuşchi neted în unele cazuri de hepatită cronică progresivă, iar anticorpii antimitocondriali ar surveni cu o mai mare frecvenţă în cirozele biliare. Valoarea acestor teste imunologice în stabilirea unui diagnostic diferenţial este însă

discutabilă şi este încă greu de a afirma existenţa unor aspecte imunologice specifice pentru o anumită afecţiune hepatică. De altfel, hipergamaglobulinemia policlonală nu este specifică hepatopatiilor cronice şi se poate întâlni în orice proces inflamator cronic (de exemplu în poliartrita reumatoidă, endocardita infecţioasă sau un proces tuberculos).

Creşterea fracţiunilor electroforetice α_1 şi α_2, respectiv a proteinelor de fază acută (CRP, fibrinogen, α_1AT), se poate întâlni în boli hepatice evoluând cu fenomene accentuate de colestază, precum şi în procese tumorale primitive sau metastatice ale ficatului. De notat că în tumori hepatice, gamaglobulinele nu prezintă creşteri semnificative, excepţie făcând adenocarcinomul cu ciroză când pe electroforeza proteinelor serice apar creşteri ale fracţiunilor α_1 şi γ (17,22,23).

Deşi multe laboratoare clinice au astăzi posibilitatea de a separa proteinele plasmatice prin metode electroforetice şi a le doza diferenţiat prin metode imunochimice, aşa-zisele **teste de disproteinemie** sau de labilitate coloidală nu şi-au pierdut o oarecare utilitate practică, fiind uşor de executat şi furnizând rezultate în decurs de 15-30 de minute. Testul cu timol este mai puţin fundamentat biochimic şi se pozitivează în caz de creştere a unor globuline cu migrare beta sau gama, precum şi a unor lipoproteine care reduc stabilitatea coloidală a serului, dând rezultate fals pozitive în cazurile cu hipertrigliceridemie şi plasmă lactescentă. În schimb, testul cu sulfat de zinc furnizează relaţii destul de fidele cu privire la creşterea gamaglobulinelor serice. De notat că în multe cazuri de ciroză hepatică avansată testul timol este normal, pe când sulfatul de zinc este intens pozitiv.

5.2. TESTE CARE INDICĂ O CREŞTERE A PERMEABILITĂŢII MEMBRANEI HEPATOCITELOR

Suferinţa celulelor hepatice care duce la creşterea permeabilităţii membranei hepatocitelor, dar nu neapărat la liza sau necroza acestor celule, se detectează pe baza creşterii în ser a unor enzime celulare, ca de exemplu ASAT, ALAT, LDH (izoenzimele 4 şi 5) şi a GLDH. Există şi alte enzime celulare al căror nivel creşte în caz de leziuni hepatice, aşa cum sunt ornitilcarbamiltransferaza (OCT), izocitratdehidrogenaza (ICDH) şi sorbitoldehidrogenaza (SDH), care sunt mai rar utilizate în laboratorul clinic, deşi unele dintre ele (OCT, SDH) sunt considerate ca fiind mai specifice pentru parenchimul hepatic. Mecanismele intime care duc la creşterea în ser a enzimelor celulare şi factorii de care depinde gradul acestor creşteri au fost prezentate anterior în capitolul 3. Reamintim doar că nivelul seric al acestor enzime de leziune variază în funcţie de numărul de hepatocite afectate, de gravitatea lezării fiecărei celule, de viteza cu care s-au produs leziunile şi de viteza de eliminare din ser a enzimelor respective. Ca urmare, în diferitele boli ale ficatului se realizează spectre diferite ale activităţii enzimelor lezionale în funcţie de etiologia şi stadiul evolutiv al hepatopatiei (vezi tabelul 5.1.)

Astfel, alături de creşterea în ser a enzimelor celulare, se produc şi modificări ale raporturilor dintre activităţile diverselor enzime. De exemplu, la subiecţii sănătoşi raportul ASAT/ALAT (raportul De Rittis) este de aproximativ 1,3, pe când în cazurile comune de hepatită virală acest raport este subunitar datorită creşterii cu predominanţă a ALAT, iar atunci când leziunile capătă un caracter necrotizant, raportul amintit creşte, întrucât creşterea ALAT se asociază cu o creştere şi mai exprimată a ASAT, fiind mărite şi valorile enzimei mitocondriale GLDH.

Aceste "distorsiuni" ale rapoartelor ASAT/ALAT ar putea fi explicate prin mai multe mecanisme:

Tabel 5.1.

Comportarea nivelelor serice ale unor enzime celulare (ASAT, ALAT, GLDH) în diferite forme clinice ale unor boli hepatice, în funcție de gradul, extinderea și viteza de instalare a leziunilor. Evaluarea numerică dată sub formă de multipli ai limitei superioare a normalului, are doar un caracter orientativ. Activitatea serică a LDH crește doar în cursul leziunilor severe și rapid instalate.

Grad de afectare a hepatocitului	Moderat			Sever	Relativ sever	Sever	Sever
Număr de celule afectate	mare			mare	variabil	relativ mai redus	redus
Viteza de instalare a leziunilor	rapidă			rapidă	relativ mai lentă	relativ mai lentă	lentă
Nivelul seric al enzimelor	mult crescut			foarte mult crescut	moderat crescut	moderat crescut	puțin crescut
Exemple de boală	Hepatită acută			Intoxicație acută (CCl_4 ciuperci)	Hepatită cronică progresivă	Ciroză hepatică activă	Ciroză hepatică "stinsă"
	anicterică	icterică	necrotizantă				
Exemple numerice (X limita superioară a normalului) ASAT	10 X	20 X	100 X	200 X	5-10 X	4-5 X	1-1,5 X
ALAT	15-20 X	30 X	80 X	160 X	3-6 X	2-3 X	1-1,5 X
GLDH	3-4 X	10 X	70 X	900 X	7 X	3 X	1
LDH	-	-	2-3 X	20 X	-	-	-

- În cazul unei leziuni moderate care afectează doar permebilitatea membranei hepatocitelor, scurgerea din celule interesează mai ales enzimele cu localizarea citosolică, aşa cum este ALAT, pe când în cazul unor leziuni cu caracter necrotizant se eliberează din celule şi enzimele mitocondriale (de exemplu GLDH), iar ASAT, cu localizare biloculară (citosolică şi mitocondrială), creşte mai mult decât ALAT.

- S-a arătat că ALAT se află în cantitate mai mare în celulele de la periferia lobulilor hepatici care sunt mai rapid afectate de procesele inflamatorii, debutând de regulă în spaţiile interlobulare.

- Timpul de înjumătăţire (T/2) al ALAT este mai prelungit, astfel încât această enzimă persistă în ser mai mult decât ASAT, al cărei timp de înjumătăţire este ceva mai scurt (vezi cap.3).

Ca urmare, în hepatita acută virală, când survine o lezare destul de rapidă dar relativ moderată a unui mare număr de hepatocite, creşterea aminotransferazelor depăşeşte de 10-100 de ori limita superioară a normalului (în medie de 50 de ori), iar de regulă ALAT > ASAT.

În hepatita cronică progresivă aminotransferazele cresc de cel mult 20 ori faţă de limita superioară a normalului (valori între 5-20), iar în procesele necrotice ASAT > ALAT.

Hepatita cronică stabilizată, în care procesul inflamator este cantonat în spaţiile portale, se însoţeşte de regulă de creşteri mai puţin exprimate ale acestor enzime (2-3 ori limita superioară a normalului) şi de obicei ALAT > ASAT.

Hepatopatia alcoolică acută duce la majorări relativ importante ale aminotransferazelor (5-10 ori limita superioară a normalului), iar ASAT > ALAT.

În cirozele biliare primitive, creşterea aminotransferazelor este moderată (2-3 ori limita superioară a normalului), iar în cirozele hepatice decompensate parenchimatos (când parenchimul hepatic este în parte înlocuit cu ţesut fibros), creşterile enzimatice sunt şi mai reduse, accentuându-se în puseurile evolutive necrotice, când ASAT > ALAT.

Creşteri abia schiţate ale aminotransferazelor survin în procesele neoplazice ale ficatului, când lezarea celulelor hepatice se produce pe arii limitate, în jurul infiltratului malign, dar lezarea acestor celule este severă, astfel încât ASAT > ALAT.

Cele mai importante şi mai rapide creşteri în ser ale enzimelor celulare survin în leziunile toxice ale ficatului (ciuperci, tetraclorură de carbon). Valorile aminotransferazelor depăşesc de 100 de ori limita superioară a normalului, iar ASAT > ALAT. În astfel de situaţii se constată şi creşteri ale LDH (izoenzimele 4 şi 5) precum şi ale GLDH.

Cu excepţia cazurilor semnalate mai sus, determinările de LDH nu îşi găsesc o utilitate reală în explorarea bolilor hepatice, deoarece izoenzimele LDH_{4-5}, specifice ficatului şi musculaturii, se elimină rapid din circulaţie.

O stare patologică particulară caracterizată biochimic prin creşterea exprimată şi simultană în ser a enzimelor celulare hepatice (ASAT,ALAT, GLDH, OCT), a celor musculare (CK) precum şi a alfa amilazei şi lipazei pancreatice se întâlneşte în sindromul Reye. Sindromul apare la copii şi este alcătuit din două faze: un episod infecţios acut (gripă, varicelă), urmat la câteva zile de vărsături şi encefalopatie, asociate cu modificările menţionate ale enzimelor serice şi cu creşterea în ser a acizilor organici (lactic, piruvic, acetoacetic) şi a acizilor aminaţi. Întrucât examenul histochimic evidenţiază o scădere a enzimelor mitocondriale în materialul bioptic, sindromul Reye ridică problema unei lezări generalizate a mitocondriilor (1,18,19,23).

5.3. TESTE CARE INDICĂ O INSUFICIENŢĂ FUNCŢIONALĂ A FICATULUI

Ficatul intervine în numeroase procese metabolice, sintetizează o bună parte a proteinelor plasmatice şi asigură în mare măsură mecanismele prin care are loc îndepărtarea substanţelor străine organismului (xenobiotice). Îndeplinirea acestor funcţii nu depinde doar de masa de celule hepatice funcţionale ci şi de o perfuzie adecvată a hepatocitelor. Este deci evident că o alterare a circulaţiei hepatice şi în special o scurtcircuitare portosistemică va afecta în special testele de traversare hepatică a coloranţilor şi de detoxifiere a produşilor de putrefacţie intestinală, chiar dacă masa de celule hepatice nu este excesiv redusă, iar funcţia proteosintetică a ficatului este parţial menţinută. Din aceste motive apare necesară o diferenţiere în mai multe categorii a testelor care explorează funcţionalitatea ficatului.

5.3.1. TESTE CARE FURNIZEAZĂ RELAŢII PRIVIND SINTEZA HEPATICĂ DE PROTEINE

Aşa cum s-a arătat într-un capitol precedent, marea majoritatea a proteinelor plasmatice, cu excepţia imunoglobulinelor, este sintetizată în ficat. Trebuie precizat însă că nivelul plasmatic al unei proteine secretată de ficat depinde nu doar de viteza de sinteză dar şi de viteza de degradare. Aşa de exemplu, proteinele care sunt rapid catabolizate după formarea de complexe, aşa cum sunt haptoglobina şi proteina C3 a complementului, nu sunt potrivite pentru evaluarea capacităţii proteosintetice a ficatului, deşi nivelul lor plasmatic poate scădea şi din cauza unui deficit de sinteză (17).

Indicatorii cei mai utilizaţi pentru depistarea unei reduceri a proteosintezei hepatice sunt albumina serică, colinesteraza serică (CHE) şi factorii coagulării dependenţi de vitamina K. Pentru decelarea unei insuficienţe hepatice care se instalează brusc este de preferat explorarea enzimelor şi proteinelor care se caracterizează printr-o viteză de remaniere accelerată (turnover rapid) astfel încât scăderea lor în plasmă survine în scurt timp de la instalarea insuficienţei hepatice. Astfel de indicatori sunt prealbumina (T/2 < 2 zile), factorul VII al coagulării şi proteina C a coagulării (T/2 = 6-8 ore la ambele). Deficitul cronic al proteosintezei survenit la bolnavii cu ciroză hepatică se evidenţiază însă mai pregnant urmărind scăderea proteinelor şi enzimelor cu un turnover mai lent, ca de exemplu albumina serică (T/2 aproximativ 20 de zile) şi CHE serică (T/2 aprox. 14 zile).

Multe laboratoare se limitează la dozarea albuminei serice şi a factorilor coagulării dependenţi de vitamina K. De notat însă că scăderea albuminei se poate datora nu numai unui deficit de sinteză ci şi unei distribuţii anormale, trecând în lichidul de ascită într-un caz de ciroză sau în flictenele unui bolnav cu arsuri extinse, respectiv se poate pierde prin urină în caz de proteinurie masivă. Mecanismele amintite nu afectează însă comportarea CHE serice, care, având o greutate moleculară mult mai mare decât albumina, rămâne în compartimentul vascular.

Confirmând datele autorilor germani (1,11,17), observaţiile efectuate în laboratorul nostru (5,7) ne-au convins de utilitatea determinărilor de CHE, care constituie unul din puţinele teste hepatice cu valoare prognostică. De fapt scăderea progresivă a acestei enzime serice indică o evoluţie defavorabilă, iar valorile situate la aproximativ 10% din media normalului atrag atenţia asupra pericolului comei hepatice (vezi fig.5.1). Totodată, gradul de scădere a CHE într-o ciroză hepatică decompensată parenchimatos este mai accentuat decât scăderea albuminei sau a complexului protrombinic.

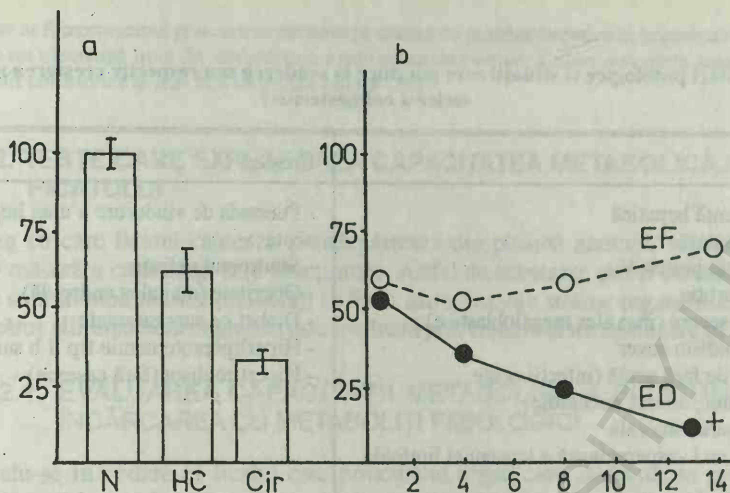


Fig.5.1. a) Valorile medii ale activităţii CHE serice (în procente din media normalilor) la subiecţii normali (N= 100%), la bolnavii cu hepatită cronică activă (HC) şi la bolnavii cu ciroză hepatică (Cir). b) Comportarea CHE în cursul evoluţiei unor cazuri de ciroză hepatică ED = bolnav cu evoluţie defavorabilă spre comă hepatică şi deces; EF = bolnav cu evoluţie relativ favorabilă. Pe abscisă - timpul în luni; pe ordonată - activitatea CHE în procente din media normalilor.

Pe de altă parte, în cazurile de insuficienţă hepatică, instalată rapid la un bolnav cu hepatită acută necrotizantă, decesul poate surveni înainte ca scăderea mai lentă a CHE să ajungă sub 50% din media normalilor, pe când factorul VII al coagulării poate ajunge la valori sub 10%.

Pe lângă acest neajuns al determinărilor de CHE, trebuie arătat că scăderea activităţii acestei enzime poate surveni şi în alte situaţii şi că valorile întâlnite la subiecţii sănătoşi sunt destul de dispersate (mai scăzute la femei gracile şi mai crescute la bărbaţii cu supragreutate).

În tabelul 5.2 sunt trecute principalele situaţii care duc la modificări ale activităţii CHE serice.

Din punct de vedere fiziopatologic este important de precizat că, în unele stări patologice, scăderea activităţii serice a CHE nu se datorează unui deficit de sinteză ci unor variaţii în reglarea sintezei hepatice de proteine. Aşa de exemplu, în reacţia de fază acută indusă de citokinele proinflamatorii (în special IL 6) se produce un fel de comutare a sintezei de proteine în ficat, astfel încât creşterea secreţiei proteinelor de fază acută (α_1 antitripsină, fibrinogen, α_1 glicoproteină acidă) se însoţeşte de scăderea producţiei de CHE, albumină, lipoproteine, transferină şi factor XIII al coagulării.

O menţiune specială merită însă acordată scăderilor cu caracter genetic ale activităţii CHE serice, datorate producerii unei variante de enzimă inactivă faţă de toate substratele cunoscute ale CHE. În astfel de situaţii, depistarea unei activităţi deosebit de scăzute a CHE (practic nulă la homozigoţi şi de 50-60% la heterozigoţi) constituie o surpriză de laborator şi contrastează cu starea generală a subiectului investigat şi cu lipsa altor semne de afectare a ficatului (aminotransferazele, albumina serică şi testele de coagulare fiind normale). Această anomalie, ca şi existenţa altor variante atipice (dibucainrezistentă, fluororezistentă) de CHE nu sunt însă lipsite de interes clinic, deoarece, spre deosebire de CHE normală, variantele atipice nu sunt capabile să hidrolizeze succinilcolina, un miorelaxant utilizat în anestezie. Din acest

Tabel 5.2.

Diverse stări patologice şi situaţii care pot duce la scăderea sau respectiv creşterea activităţii serice a colinesterazei

Scăderi	Creşteri
- Insuficienţă hepatică - Ficat de stază - Denutriţie proteică - Malabsorbţie - Anemii severe (mai ales megaloblastice) - Hipotiroidism sever - Reacţie de fază acută (infecţii acute, postoperator, infarct miocardic) - Impregnare tumorală - Terapie cu L-asparaginază a leucemiei limfoide acute - Terapia cu ciclofosfamidă - Intoxicaţii cu pesticide organofosforice - Sarcină (scădere fiziologică) - Contraceptive orale - Scăderi cu caracter genetic	- Perioada de vindecare a unei hepatite acute - Sindromul nefrotic - Obezitate (mai ales androidă) - Diabet cu supragreutate - Hiperlipoproteinemie tip II b sau IV - Hipertiroidism (fără caşexie)
Scăderile activităţii CHE se pot datora fie unei deprimări a capacităţii de sinteză, fie unei modificări a reglării sintezelor hepatice de proteine, fie unei inhibări a enzimei ca de exemplu în intoxicaţia cu organofosforice.	Creşterile activităţii CHE pot fi în genere atribuite unei stimulări a sintezei hepatice de proteine

motiv, administrarea succinilcolinei unor subiecţi cu anomalii ale CHE este urmată de o perioadă prelungită de apnee.

CHE, albumina şi factorii coagulării sunt doar o parte a numeroaselor enzime şi proteine secretate de către ficat. Între acestea se includ lecitincolesterolaciltransferaza (LCAT), ceruloplasmina, factorul XIII stabilizator al fibrinei, antitrombina III - principalul inhibitor al coagulării, α_2 antiplasmina - principalul inhibitor al plasminei, o bună parte a inhibitorului activării plasminogenului (PAI), fibronectina, proteinele C şi S cu rol în limitarea coagulării, factorul V al coagulării, transferina şi numeroase alte molecule proteice aflate în cantităţi mici şi având rol în transportul vitaminelor şi al hormonilor.

Deşi fiecare din proteinele plasmatice amintite mai sus au semnificaţie funcţională şi pot prezenta variaţii patologice, ele nu sunt utilizate de rutină pentru explorarea funcţiei proteosintetice a ficatului. Reamintim doar că prin importantul său rol atât în sinteza factorilor procoagulanţi şi antifibrinolitici, precum şi a celor anticoagulanţi, ficatul este în mare măsură responsabil de menţinerea hemostazei, iar insuficienţa hepatică severă poate evolua atât cu sindrom hemoragic cât şi cu fenomene de coagulare intravasculară diseminată (9,21).

O situaţie oarecum particulară a sintezelor hepatice de proteine survine în cazul hepatopatiilor colestatice. Se pare că prin mecanisme încă insuficient elucidate retenţia biliară stimulează sinteza unor proteine ca de exemplu: factorii coagulării dependenţi de vitamina K, inclusiv proteina C (4,9), antitrombina III, componenta C3 a complementului, proteina C reactivă şi o serie de inhibitori plasmatici ai proteazelor (22). Este evident însă că în cazul unei colestaze extrahepatice care perturbă absorbţia vitaminei K, activitatea procoagulantă a factorilor coagulării dependenţi de această vitamină va scădea.

Oricare ar fi mecanismul prin care se stimulează sinteza de proteine hepatice în hepatopatiile colestatice, acestea nu afectează tipul de comportare a colinesterazei serice, a cărei activitate scade în astfel de hepatopatii colestatice şi mai ales în ciroza biliară (26).

5.3.2. TESTE CARE EXPLOREAZĂ CAPACITATEA METABOLICĂ A FICATULUI

Viteza cu care ficatul captează şi îndepărtează din plasmă anumite substanţe poate constitui o măsură a capacităţii sale funcţionale. Astfel de substanţe pot fi metaboliţi fiziologici care sunt în mod normal prelucraţi în ficat, sau substanţe străine organismului (xenobiotice) a căror eliminare din organism este facilitată prin captare şi metabolizare în ficat (17).

5.3.2.1. EVALUAREA CAPACITĂŢII METABOLICE A FICATULUI PRIN ÎNCĂRCAREA CU METABOLIŢI FIZIOLOGICI

Având-se în vedere că ficatul este principalul organ care intervine în procesul de metabolizare a galactozei şi a acizilor aminaţi, aceşti compuşi au fost utilizaţi în instituirea unor probe hepatice funcţionale.

Testul cu galactoză. Acest test se bazează pe faptul că la subiecţii sănătoşi galactoza este rapid captată din plasmă doar în ficat şi tranformată în glucoză prin fosforilare şi epimerizare în hepatocite. Marea viteză de extracţie din plasmă a galactozei face ca acest test să fie în mare măsură dependent de variaţiile fluxului sanguin hepatic.

Un procedeu relativ simplu constă în evaluarea **galactozuriei provocate** când se administrează subiectului investigat 40 g de galactoză în 250 ml ceai, recoltându-se apoi urina pe timp de 4 ore. În timp ce subiecţii normali nu elimină mai mult de 3 g galactoză, bolnavii cu insuficienţă hepatică elimină cantităţi cu atât mai mari cu cât decompensarea parenchimatoasă este mai severă.

O probă mai bine standardizată constă în injectarea intravenoasă a unei soluţii de galactoză (0,5 g galactoză/kg greutate corporală) în decurs de 5 minute. Se determină apoi galactozemia la intervale de 5 minute timp de o oră de la iniţierea injecţiei, măsurându-se şi eliminările urinare. Pe baza vitezei de scădere a galactozei din sânge se poate calcula capacitatea ficatului de a capta şi metaboliza galactoza. La normali valoarea medie ± SD este de 6,7 mg ± 1/minut/kg greutate corporală şi scade în caz de insuficienţă hepatică. De notat că testul de captare şi metabolizare se utilizează doar în scop de cercetare, putându-se obţine informaţii asupra circulaţiei hepatice (17,18,10).

Teste de încărcare cu aminoacizi. Ficatul reprezintă principalul organ în care are loc metabolizarea acizilor aminaţi, respectiv dezaminarea oxidativă, aminotransferarea (transaminare) şi încorporarea lor în proteinele hepatice sau în proteinele plasmatice de export. La subiecţii normali, îndepărtarea acizilor aminaţi din sânge decurge cu o viteză de peste 20 g/oră, captarea hepatică fiind favorizată de insulină. În insuficienţa hepatică sau în cursul tratamentului cu L-asparaginază care perturbă sinteza de proteine în ficat, se ajunge la creşteri importante ale aminoacidemiei, fenomenul accentuându-se mult în contextul încărcării cu aminoacizi în perfuzie. S-au imaginat diverse teste de încărcare cu acizi aminaţi dintre care cel mai sensibil pare a fi cel cu metionină marcată ^{35}S sau ^{75}Se. În caz de insuficienţă hepatică, captarea acestui aminoacid marcat este încetinită, iar un procent important de metionină nemetabolizată apare în urină. Testul permite şi o evaluare a măsurii în care aminoacidul marcat se încorporează în diversele proteine plasmatice (vezi fig.5.2) (25).

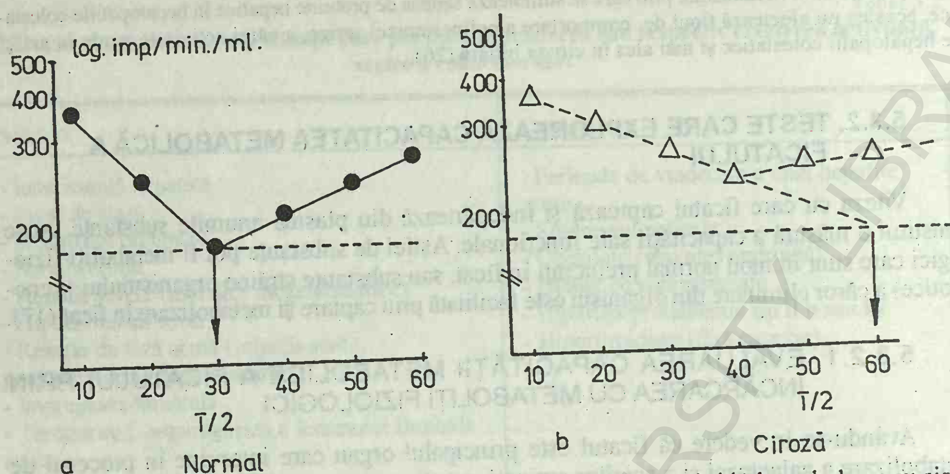


Fig.5.2. Testul de încărcare cu 75Se metionină a) la un subiect normal şi b) la un bolnav cu ciroză hepatică decompensată parenchimatos.
Pe abscisă timpul de la administrarea izotopului (în minute).Pe ordonată radioactivitatea plasmei (impulsuri/min/ml în reprezentare logaritmică).
Timpul de înjumătăţire (T/2) biologică a metioninei, indicând captarea hepatică a aminoacidului se poate calcula din panta descendentă şi este indicat printr-o săgeată perpendiculară pe abscisă. Panta ascendentă indică "reîntoarcerea" radioactivităţii în plasmă în urma încorporării metioninei marcate în proteinele plasmatice. De notat că la bolnavul cu insuficienţă hepatică captarea metioninei în ficat este încetinită, iar încorporarea aminoacidului marcat în proteinele plasmatice este mult întârziată.

Dozarea amoniemiei. Cea mai mare parte a amoniacului (NH_3), rezultat din dezaminarea acizilor aminaţi în ficat şi în alte ţesuturi si mai ales sub acţiunea bacteriilor intestinale este transformat în uree la nivelul hepatocitelor. Datorită eficienţei procesului de ureogeneză, nivelul amoniacului sanguin se menţine, la normali, în limite joase de 10-20 µg/dl (5,87-11,74 µmoli/l). În caz de insuficienţă hepatică şi mai ales în caz de şuntare a circulaţiei portocave, nivelul amoniemiei poate creşte până la de 5 ori limita superioară a normalului, valorile putând fi mai ridicate atunci când la un bolnav cu ciroză hepatică survine o hemoragie digestivă superioară. Creşterea amoniemiei orientează asupra pericolului encefalopatiei portale considerându-se că amoniacul ar avea un efect toxic asupra sistemului nervos central (22). De fapt amoniacul nu este singurul şi probabil nici principalul compus toxic de provenienţă intestinală implicat în producerea manifestărilor neuropsihice la bolnavii cu ciroză hepatică. Aşa de exemplu, aminele rezultate în intestin prin decarboxilarea aminoacizilor aromatici (tirozină, fenilalanină), nedegradate în ficat şi având o structură similară catecolaminelor (de exemplu feniletanolamină), pot interfera cu aceşti mediatori chimici la nivelul receptorilor adrenergici, putând astfel explica atât hipotensiunea cât şi fenomenele neuropsihice ale bolnavelor cu insuficienţă hepatică (17,19).

5.3.2.2. EXPLORAREA CAPACITĂŢII FICATULUI DE A METABOLIZA ŞI A ELIMINA SUBSTANŢE STRĂINE ORGANISMULUI (XENOBIOTICE)

Pentru ca un xenobiotic să poată fi utilizat în clinică el trebuie să îndeplinească următoarele condiţii: să nu fie toxic pentru bolnavi; să fie eliminat din plasmă doar, sau mai ales prin captare hepatică; să poată fi administrat pe cale intravenoasă, sau în caz de administrare orală să se absorbă rapid şi cât mai complet; să poată fi dozat în plasmă sau eventual în salivă.

Pentru majoritatea acestor substanţe, eliminarea din plasmă decurge logaritmic, iar prin dozări seriate ale concentraţiei lor în plasmă se poate stabili viteza de eliminare şi respectiv valoarea clearance (Cl) conform formulei:

$$Cl = \frac{0,693 \times Vd}{t/2}$$

unde:

0,693 reprezintă logaritmul natural de 2; Vd reprezintă volumul de distribuţie al substanţei, care se obţine împărţind doza de substanţă administrată la concentraţia plasmatică a respectivei substanţe, extrapolată la timpul 0.

Este evident că valorile clearance vor depinde de capacitatea de captare şi metabolizare de către hepatocite, dar şi de debitul sanguin hepatic. Ca urmare, într-un caz de insuficienţă cardiacă cu ficat de stază astfel de explorări vor furniza valori de clearance mult mai scăzut decât s-ar putea datora suferinţei hepatice. Un exemplu tipic în acest sens este testul bazat pe **excreţia de bromsulfonftaleină (BSP)**; de altfel datorită unor efecte secundare nedorite (periflebită, reacţii anafilactice) precum şi datorită costului ridicat, acest test este rar practicat în laboratorul clinic (18,19).

Testul cu verde de indocianină este mai lipsit de riscurile prezentate de BSP, dar preţul de cost este şi mai ridicat, iar colorantul este instabil în plasmă, astfel încât concentraţia în plasmă trebuie măsurată la scurt timp de la recoltarea probei de sânge.

Spre deosebire de testele bazate pe eliminările de coloranţi mai sus amintite, **antipirina** nu se fixează pe proteinele plasmatice şi difuzează în toate compartimentele organismului (plasmă, lichid interstiţial şi apă celulară). Medicamentul este captat de ficat, metabolizat şi eliminat sub formă de metaboliţi care pot fi detectaţi în urină sub formă conjugată. **Testul cu antipirină** prezintă o serie de avantaje:

a. administrat în soluţie apoasă medicamentul se absoarbe integral din intestin ceea ce permite administrarea pe cale orală;

b. se răspândeşte relativ uniform în toate ţesuturile şi umorile ceea ce permite dozarea substanţei nu numai în plasmă ci si în salivă;

c. captarea şi metabolizarea antipirinei de către hepatocite sunt mai puţin influenţate de variaţiile debitului sanguin;

d. dispariţia din plasmă (sau salivă) poate fi reprezentată liniar atunci când logaritmul concentraţiilor se raportează la timp (vezi fig.5.3).

Pe de altă parte, s-a constatat o variabilitate destul de accentuată a valorilor de clearance ale antipirinei la subiecţii sănătoşi, metabolizarea substanţei fiind dependentă de factori genetici, de vârstă (scade cu vârsta) de starea de nutriţie (scade la denutriţi) şi de eventualele medicaţii administrate. Aşa de exemplu, administrarea repetată de agenţi inductori (fenobarbital, DDT, dicumarol, alcool) accelerează ritmul de metabolizare al antipirinei, în timp ce betablocantele de tipul propranololului încetinesc procesul de clearance (2,14). S-a considerat chiar (19) că principala valoare a testului cu antipirină ar fi aceea de evaluare a sis-

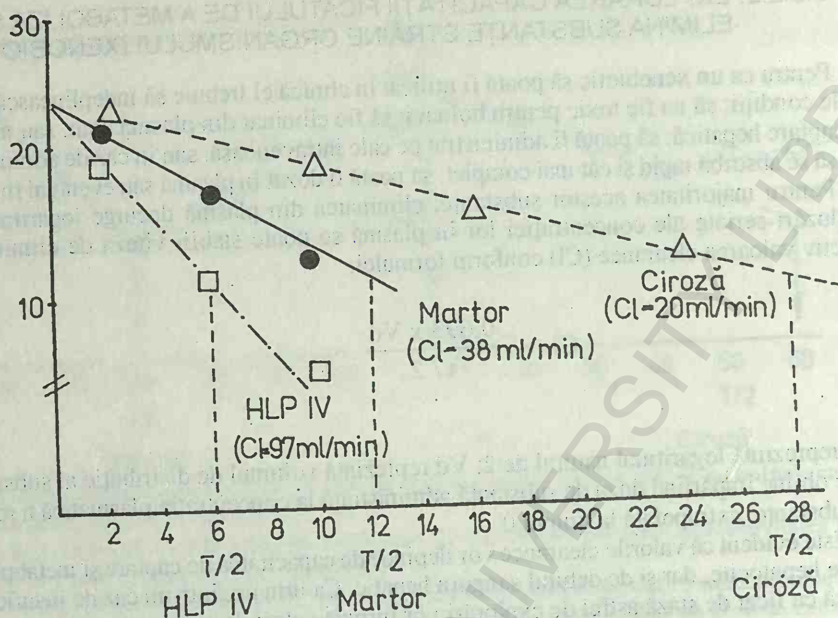


Fig.5.3. Explorarea funcţiei sistemului microsomal de hidroxilare pe baza procesului de clearance al antipirinei. Pe abscisă timpul în ore; pe ordonată concentraţie de antipirină în salivă în µg/ml (reprezentare logaritmică). De notat că la bolnavul cu ciroză hepatică T/2 este net prelungit, iar valoarea clearance este diminuată. Pe de altă parte, în comparaţie cu subiectul de control, subiectul cu hiperlipoproteinemie de tip IV se caracterizează printr-o accelerare a mecanismelor implicate în eliminarea antipirinei.

temului microsomal al oxidoreductazelor cu funcţii mixte (vezi cap.3). Cu toate acestea, o afectare hepatică severă, inclusiv ciroza alcoolică, se asociază cu o scădere a procesului de clearance al antipirinei.

Metode de clearance hepatic bazate pe dozarea $^{14}Co_2$ în aerul expirat. Implică utilizarea unor substanţe marcate cu ^{14}C în lanţurile laterale metil sau etil. În urma metabolizării (demetilări, deetilări) aminopirinei (^{14}C-dimetil-aminoantipirină), cafeinei sau fenacetinei se eliberează molecule de $^{14}CO_2$ care se elimină prin respiraţie. Prin captarea $^{14}CO_2$ din aerul respirat şi dozarea radioactivităţii se poate aprecia capacitatea ficatului de a metaboliza compuşii amintiţi (17,18,19).

5.4. TESTE INDICATOARE ALE COLESTAZEI

Din punct de vedere fiziopatologic colestaza poate fi definită ca o perturbare în procesul de formare şi curgere a bilei şi implicit însoţită de o diminuare a debitului biliar. Această perturbare poate surveni începând de la polul biliar al hepatocitelor (postmicrosomal) şi până la nivelul sfincterului lui Oddi.

Din punct de vedere morfologic, colestaza se caracterizează printr-o acumulare vizibilă de pigmenţi biliari în hepatocite şi prezenţă de "trombi biliari" în canaliculele biliare, iar sub aspect clinic, impresionează marea incidenţă a pruritului. Se disting **colestaze extrahepatice** (calcul în căile biliare, coledocită scleroasă, neoplasm de cap de pancreas) şi **colestază intrahepatică**, cea mai reprezentativă formă clinică fiind ciroza biliară.

În timp ce mecanismul patogenic al colestazei extrahepatice este relativ simplu, constând din îngustarea sau chiar obstrucţia mecanică a principalelor căi biliare extrahepatice (în special coledocul), patogeneza colestazei intrahepatice este mai obscură. Se consideră că în această ultimă formă de colestază ar surveni o perturbare a formării fluxului biliar apos la nivelul canaliculelor biliare, această modificare fiind în legătură cu anumite anomalii în economia acizilor biliari (vezi cap. 4).

Există anumite teste biochimice care se pozitivează în ambele forme de colestază şi care constau din retenţia în sânge a componentelor bilei şi în special a acizilor biliari şi din creşterea activităţii serice a "enzimelor de colestază", respectiv a fosfatazei alcaline, γ-glutamiltransferazei, 5-nucleotidazei şi leucinaminopeptidazei.

5.4.1. ENZIME INDICATOARE ALE COLESTAZEI

În practica clinică se utilizează dozările de fosfatază alcalină (AlP) şi γ-glutamiltransferază (γ-GT), al căror nivel creşte chiar şi în formele minore de colestază, atunci când nivelul bilirubinei conjugate este normal sau prezintă creşteri abia schiţate. Gradul de sensibilitate şi de specificitate prezintă diferenţe apreciabile. Astfel AlP poate creşte de 5-10 ori faţă de limita superioară a normalului, pe când γ-GT ajunge la valori de 20-50 ori, limita superioară a normalului.

Pe de altă parte, AlP creşte şi în boli osoase (vezi cap.7), iar pentru diferenţierea AlP de origine hepatobiliară faţă de cea provenită din osteoblaste este necesară dozarea izoenzimelor (electroforetic, prin gradul de inactivare la căldură sau cu ajutorul unor inhibitori specifici pentru o anumită izoenzimă). Dacă însă creşterea AlP survine concomitent cu cea a γGT se poate afirma existenţa unui proces de colestază.

Creşterea activităţii serice a γ-GT este şi mai puţin specifică pentru colestază, valori crescute ale acestei enzime putându-se întâlni în orice afecţiune hepatică. Gradul de creştere al activităţii γ-GT este însă mai puţin exprimat într-o hepatită cronică fără fenomene de colestază (2-5 ori limita superioară a normalului) decât într-un caz în care colestaza se situează pe primul plan. O situaţie mai deosebită este dată de consumul cronic de alcool şi de tratamentul cronic cu anticonvulsivante (fenobarbital, fenitoină). Creşterile γ-GT sunt relativ moderate în urma tratamentului cu anticonvulsivante, în timp ce la alcoolici nivelul seric al γ-GT poate ajunge la de 50 de ori valoarea normalului, creşterea AlP depăşind rareori dublul valorilor normale. Gradul de creştere al γGT la un alcoolic variază de la caz la caz şi nu depinde atât de cantitatea de alcool consumată cât mai ales de persiestenţa îndelungată a consumului. S-a mai arătat că o încărcare suplimentară cu alcool la un caz de alcoolism cronic produce în decurs de 24 de ore o creştere şi mai accentuată a activităţii serice a γGT, în timp ce o aceeaşi încărcare cu alcool are efecte minime la un subiect sănătos, care consumă băuturi alcoolice doar în mod ocazional (vezi fig. 5.4).

De notat că în condiţiile unei alterări grave a proteosintezei hepatice (valori ale CHE în jur de 20% din media celor normale) survenite la un bolnav cu ciroză alcoolică, activitatea serică a γGT nu mai prezintă valori atât de ridicate şi depăşeşte rareori triplul valorilor normale.

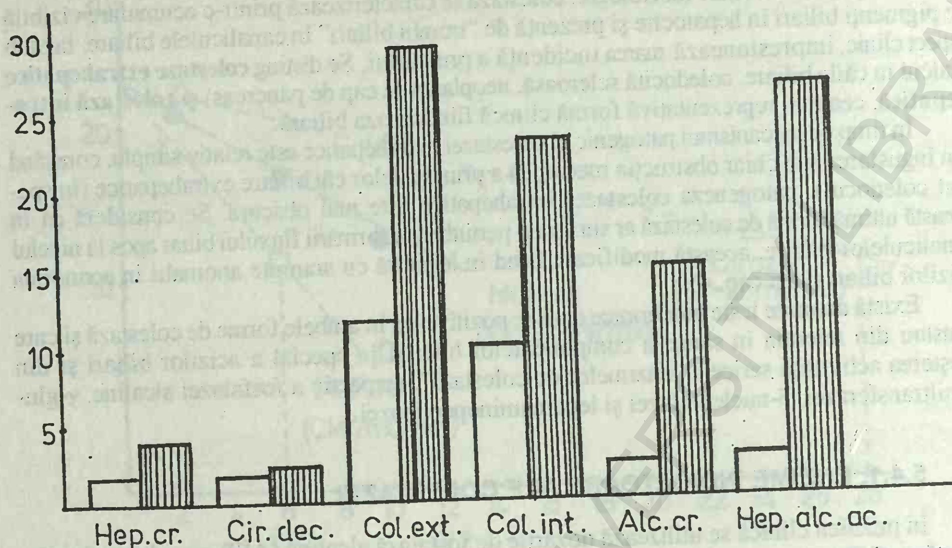


Fig.5.4. Comportarea fosfatazei alcaline (coloane albe) şi γ-glutamiltransferazei (coloane haşurate) în hepatita cronică activă (H.cr.), ciroza hepatică decompensată parenchimatos (Cir.dec.), colestază extrahepatică (col.ext.), colestază intrahepatică (col.int.), în alcoolismul cronic (Alc.cr.) şi într-o hepatită alcoolică acută survenită pe un fond de alcoolism cronic (hep.alc.ac). Pe ordonată activităţile enzimatice în multipli ai limitei superioare a normalului.

Creşteri importante ale γGT şi AlP se întâlnesc în leptospiroza icterohemoragică (boala Weil), în intoxicaţia cu clorpromazină şi în tumorile primitive sau metastatice ale ficatului.

Urmărirea în dinamică a comportării γGT şi AlP poate aduce precizări cu privire la procesul patologic care a dus la creşterea activităţii enzimelor mai sus menţionate. Astfel, în condiţiile opririi consumului de alcool de către un subiect alcoolic se ajunge la o scădere progresivă a activităţii γGT; într-o colestază intrahepatică (de exemplu ciroză biliară) activitatea enzimei se menţine constant crescută, iar într-un caz de neoplasm hepatic nivelul γGT creşte progresiv de la o examinare la alta (vezi fig.5.5).

Pentru o mai bună înţelegere a modificărilor patologice suferite de γGT şi AlP este important să se precizeze **mecanismele prin care se ajunge la creşterea activităţii serice a acestor enzime**. Există dovezi conform cărora creşterea în ser a γGT la alcoolici şi la subiecţii trataţi timp îndelungat cu barbiturice se însoţeşte de o sporire a concentraţiei de enzimă în celulele hepatice şi mai ales în microsomi. Aceste constatări sugerează că sub acţiunea alcoolului şi a fenobarbitalului are loc o creştere a sintezei hepatice de γGT, din care o anumită fracţiune trece în ser. Procesul ar reprezenta un exemplu de **inducere enzimatică**, iar nivelul seric al γGT devine un indicator al unui astfel de proces (vezi cap.3). Se consideră de asemenea că agenţii care induc o colestază intrahepatica stimulează şi sinteza de γGT şi AlP. Pe de altă parte, procesul colestatic prin care se ajunge la o creştere a acizilor biliari tensioactivi în interstiţiul ficatului se va însoţi de o lezare a membranei lipoproteice a hepatocitelor şi de eliberarea de enzime din celule. În cazul proceselor tumorale se ajunge la dezvoltarea unei colestaze limitate localizată în jurul procesului malign. Fenomenul duce la creşterea enzimelor indicatoare ale colestazei, deşi, în lipsa obstrucţiei unui duct biliar principal, nivelele serice de bilirubină

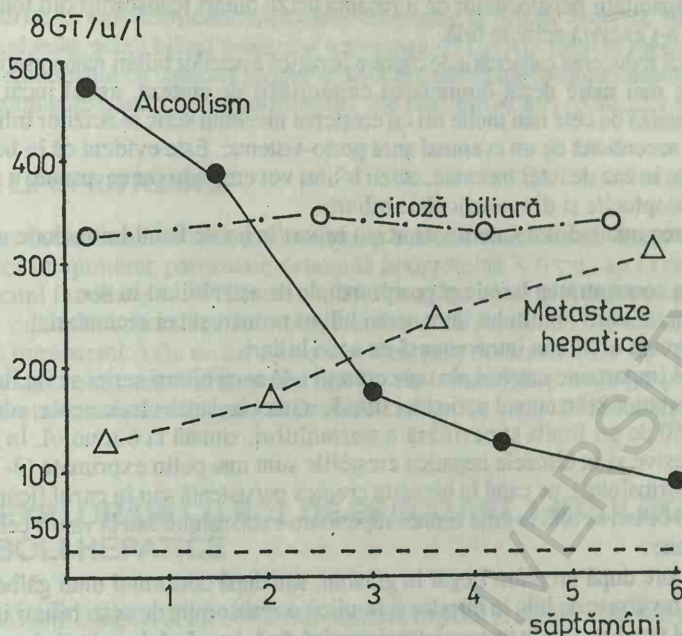


Fig.5.5. Comportarea γ-glutamiltransferazei în cursul evoluţiei la un bolnav cu alcoolism după încetarea consumului de alcool, la un caz de ciroză biliară precum şi într-un caz de metastaze hepatice ale unui carcinom gastric evoluând fără icter.

şi acizi biliari nu sunt evident crescute. Se poate bănui că metastazele hepatice ale unor carcinoame gastrice sau pancreatice ar produce substanţe care stimulează sinteza şi eliberarea de γGT. Oricum, creşterea progresivă de AlP şi γGT la un bolnav fără icter sugerează dezvoltarea unui proces malign care trebuie documentat prin imagistică şi explorarea radiologică a tubului digestiv. Pe de altă parte, în cazurile în care tumora hepatică comprimă sau obstruează coledocul se vor dezvolta toate manifestările unei colestaze extrahepatice (icter mecanic), iar creşterea progresivă a γGT şi AlP se asociază cu hiperbilirubinemie (bilirubină conjugată) şi cu creşterea acizilor biliari în ser (1,6,8,12,20,26).

5.4.2. CREŞTEREA NIVELULUI SERIC AL ACIZILOR BILIARI

Bazele fiziologice ale producţiei şi circuitului enterohepatic al acizilor biliari au fost prezentate într-un capitol anterior. Reamintim doar că o creştere a acizilor biliari în ser se poate datora nu numai colestazei dar şi unei insuficienţe hepatice. De fapt o suferinţă hepatică poate afecta economia acizilor biliari prin cel puţin 3 mecanisme:

- scăderea sintezei hepatice de acizi biliari;
- reducerea gradului de hidroxilare a acizilor biliari cu repercusiuni asupra solubilităţii acestora şi implicit asupra formării fluxului biliar apos;

- reducerea capacităţii hepatocitelor de a recapta acizii biliari reabsorbiţi din intestin, de a-i conjuga şi de a-i excreta activ în bilă.

Se pare că reducerea capacităţii de captare hepatică a acizilor biliari reabsorbiţi din intestin are o pondere mai mare decât diminuarea capacităţii de sinteză, astfel încât suferinţele hepatice evoluează de cele mai multe ori cu creşterea nivelului seric al acizilor biliari, această creştere fiind accentuată de un eventual şunt porto-sistemic. Este evident că în hepatopatiile colestatice, sau în caz de icter mecanic, acizii biliari vor creşte în ser ca urmare a refluării lor în sânge din heaptocite şi din canaliculele biliare.

Explorarea anomaliilor suferite de acizii biliari în bolile ficatului include următoarele aspecte:
- determinarea concentraţiei bazale şi postprandiale de acizi biliari în ser;
- detectarea modificării raportului între acizii biliari primari şi cei secundari;
- teste de încărcare orală sau intravenoasă cu acizi biliari.

Cele mai importante creşteri ale concentraţiei de acizi biliari serici se întâlnesc în sindroamele colestatice şi în cursul perioadei floride a unei hepatite virale acute, când se poate depăşi de 10-50 de ori limita superioară a normalului, situată la 6 μmoli/l. În hepatitele cronice progresive şi în cirozele hepatice creşterile sunt mai puţin exprimate (3-7 ori limita superioară a normalului), pe când în hepatita cronică persistentă sau în cazul ficatului grăsos nivelul acizilor biliari se află în jurul limitei superioare a normalului sau la valori cel mult duble ale acestei limite.

La două ore după un prânz bogat în grăsimi, sau după consumul unui gălbenuş de ou, care produc o revărsare de bilă în intestin şi implicit o reabsorbţie de acizi biliari în circulaţia portală, nivelul acestora creşte în circulaţia sistemică de 3-4 ori faţă de valorile bazale în cazul unei insuficienţe hepatice, pe când la normali creşterile postprandiale sunt abia schiţate.

Aşa cum s-a arătat în capitolul precedent, prin separarea cromatografică a acizilor biliari serici se poate evidenţia că în cazurile de colestază cresc mai ales acizii biliari primari (colic şi chenodeoxicolic), pe când în insuficienţa hepatică se ajunge la o creştere predominantă a acizilor biliari secundari (deoxicolic) care, reabsorbiţi din intestin dar necaptaţi de hepatocite, ajung în circulaţia sistemică (vezi şi cap.4) (10,15,16).

5.4.3. CREŞTEREA BILIRUBINEI CONJUGATE

Aşa cum s-a arătat în capitolul anterior, creşterea bilirubinei conjugate este întâlnită în caz de icter mecanic, în caz de perturbare a fluxului biliar apos şi implicit în cazurile de colestază intrahepatică, precum şi ca urmare a dezorganizării citoarhitectonicii ficatului, a necrozei cordoanelor de hepatocite şi a stabilirii de comunicări între canaliculele biliare şi capilarele sanguine.

Ca urmare, creşterea bilirubinei conjugate nu este o manifestarea specifică colestazei şi poate surveni în caz de agravare a unei hepatite cronice sau a unei ciroze şi evident în cazul unei hepatite virale acute.

De precizat că în stadiile iniţiale ale unei colestaze intrahepatice nivelul acizilor biliari este relativ mai ridicat decât nivelul bilirubinei directe, a cărei creştere este abia schiţată, iar pigmenţii biliari (bilirubina) nu pot fi detectaţi în urină cu metode de rutină.

Pe de altă parte, în caz de icter mecanic cauzat de o obstrucţie totală a canalului coledoc, nivelul bilirubinei conjugate poate ajunge la valori de 10-20 mg/dl (170-340 μmoli/l), iar aceasta se elimină prin urină care devine colurică (pigmenţi biliari pozitiv), materiile fecale sunt decolorate, iar urobilinogenul dispare din urină.

În cazurile în care creşterea bilirubinei conjugate şi urinile colurice sunt singurele anomalii decelabile, acizii biliari precum şi activitatea γGT şi AlP fiind în limite normale, se poate bănui o anomalie cu caracter genetic a mecanismelor care asigură eliminarea în bilă a bilirubinei conjugate (sindrom Dubin-Johnson, sau sindrom Rotor) (3,10,22,23).

5.4.4. LIPOPROTEINA X

Creşterea colesterolului liber şi a lecitinei la bolnavii cu fenomene de colestază duce la formarea unei lipoproteine particulare denumită lipoproteina X (vezi cap.1) care mai apare doar în deficitul familial de LCAT (vezi cap.1). S-a arătat că nivelul plasmatic de LpX este evident mai ridicat la bolnavii cu colestază extrahepatică (în medie 158 mg/dl) decât la cei cu colestază intrahepatică (în medie 25 mg/dl). Deşi prin determinările de LpX s-ar putea diferenţia mai net colestazele extrahepatice faţă de cele intrahepatice această explorare se practică rar în laboratoarele clinice, întrucât dozările cantitative implică dificultăţi tehnice (17).

5.5. EXPLORĂRI CU ROL DE PRECIZARE A ETIOLOGIEI UNOR BOLI HEPATICE

Diagnosticul complet al unei suferinţe hepatice implică şi stabilirea în măsura posibilului a factorilor etiologici. Prezentarea detaliată a factorilor etiologici ar implica incursiuni în domeniul virusologiei, imunologiei, toxicologiei şi a ştiinţelor din domeniul nutriţiei şi metabolismului intermediar. Prezentul volum se va limita la prezentarea unui tabel care să includă factorii etiologici incriminaţi în producerea bolilor hepatice (vezi tab.5.3).

Tabel 5.3.

Factorii etiologici incriminaţi în producerea bolilor ficatului

A. Factori infecţioşi (implicând şi reacţie imună)
- a. Infecţii virale
  - Hepatitele virale A, B, C
  - Mononucleaza infecţioasă, febra galbenă, hepatita neonatală dată de variate virusuri
- b. Infecţii bacteriene: leptospiroza, bruceloza, lues, tuberculoza
- c. Infecţii micotice: actinomicoză, histoplasmoză
- d. Infecţii cu protozoare: amebiază, malarie
- e. Infestaţii cu helminţi: schistosomiază, chist hidatic

B. Factori toxici:
ciuperci, alcool, Cl_4C, halotan, tiomazol, clorpromazină, contraceptive orale, PAS, izoniazidă

C. Factori nutriţionali:
carenţa de proteine (Kwashorkor), carenţa de vitamine

D. Factori metabolici (erori înnăscute de metabolism):
glicogenoze, galactozemie, porfirii, boala Gaucher, Boala Wilson, deficitul de α_1 antitripsină (fenotipul Piz), boala Byler (colestaza intrahepatică progresivă)

E. Factori carcinogeni: aflatoxine (din mucegaiuri), nitrozamine

F. Factori circulatori: insuficienţă cardiacă - ficat de stază

G. Factori încă necunoscuţi.

Pe de altă parte se consideră necesar a se prezenta datele recente privind implicarea citokinelor în patologia ficatului şi unele aspecte noi referitoare la fiziopatologia biochimică a fibrozei hepatice.

5.6. ROLUL CITOKINELOR ÎN BOLILE FICATULUI

Rolul citokinelor în patologie reprezintă un domeniu în plină dezvoltare, iar datele privind numărul acestor mediatori endogeni, precum şi cele privind efectele lor şi interacţiunile dintre ele, se acumulează în progresie geometrică.

Deşi o producţie controlată de citokine contribuie la apărarea organismului şi la repararea ţesuturilor, excesul de citokine proinflamatorii poate duce la lezarea ţesuturilor şi la fibroză.

Se ştie că astfel de citokine cum sunt interleukina-1 (IL-1), factorul de necroză a tumorilor (TNF) şi interleukina-6 (IL-6) intervin în declanşarea reacţiei de fază acută, iar ficatul stimulat de aceşti mediatori şi mai ales de către IL-6 sintetizează şi secretă aşa-zisele proteine de fază acută: α_1 antitripsină, fibrinogen, proteina C reactivă. Există şi o serie de observaţii care sugerează că ficatul ar fi o sursă importantă de citokine, fiind însă şi principalul organ care asigură îndepărtarea citokinelor din circulaţie.

Aşa cum este de aşteptat, monocitele şi limfocitele infiltrate în interstiţiul ficatului produc IL-6 şi TNF-α, iar aceste citokine modulează reacţiile inflamatorii şi imune care survin în bolile cronice ale ficatului (21).

Mai surprinzătoare sunt constatările privind producerea de IL-6 în culturile de celule ale hepatoamelor umane şi chiar în culturile primare de hepatocite (21). S-a mai arătat că în urma stimulării de către citokinele proinflamatorii, lipocitele situate în spaţiile perisinusoidale ale ficatului elaborează factor de creştere transformant (TGF-β), o citokină care joacă un rol important în fibrogeneză.

Deşi gradul de contribuţie al diferitelor celule din ficat la producerea de citokine este încă incert, s-au adus dovezi certe privind creşterea TNF, IL-6 şi a altor citokine în plasma bolnavilor cu hepatită cronică, ciroză hepatică, precum şi în cazuri de insuficienţă hepatică fulminantă.

Astfel de creşteri pot fi cauzate atât de o producţie sporită în cursul puseurilor inflamatorii, cât şi de o scădere a proceselor de clearance hepatic al citokinelor, atunci când se instalează o insuficienţă hepatică.

Se pot emite ipoteze privind modul în care excesul de citokine sau o acţiune prelungită a acestora ar putea duce la lezarea funcţiilor hepatice. În timp ce o acţiune direct nocivă asupra parenchimului hepatic este mai greu de dovedit, există indicii asupra unui efect mediat prin intermediul endoteliilor vasculare şi prin stimularea fibrogenezei (21).

De fapt citokinele proinflamatorii induc proteine de adeziune în celulele endoteliale, favorizându-se aderarea şi diapedeza leucocitelor şi în special a monocitelor în interstiţiile organului. Aceleaşi citokine produc expunerea de factor tisular la suprafaţa celulelor endoteliale, ceea ce în anumite condiţii de scădere a mecanismelor anticoagulante ar putea favoriza producerea de trombi în capilarele sinusoidale, afectând nutriţia şi oxigenarea celulelor parenchimatoase (21). Se pare însă că principalul mecanism intermediar între producerea de citokine şi suferinţa hepatocitelor este reprezentat de stimularea fibrozei hepatice (13). Pe de altă parte, administrarea terapeutică a interferonului (IFN-α) exercită efecte favorabile în hepatitele virale cronice, probabil limitând proliferarea celulelor implicate în inflamaţie şi reducând fibroza, pe lângă acţiunea sa antivirală (28).

5.7. FIZIOPATOLOGIA BIOCHIMICĂ A FIBROZEI HEPATICE

Conform unei definiţii date de experţii OMS, ciroza hepatică ar putea fi definită ca fiind "un proces difuz caracterizat prin fibroză şi transformarea arhitecturii normale a ficatului în noduli anormal structuraţi". De fapt, principalele reacţii patologice implicate în dezvoltarea cirozei hepatice pot fi astfel sistematizate:

a. necroza hepatocitelor, care pare a fi (cu unele excepţii) procesul iniţiator şi perpetuant şi care este urmat de inflamaţie;
b. regenerarea hepato-celulară;
c. fibroză;
d. dezorganizarea arhitecturii lobulare cu generarea de pseudolobuli în întreg parenchimul hepatic.

La rândul ei, fibroza hepatică include o complexitate de modificări ale matricei extracelulare a ficatului. Astfel de modificări includ:

1) o creştere de 3-6 ori a moleculelor matricei extracelulare (colagen, proteoglicani, glicoproteine);
2) o creştere disproporţionată a diverselor subtipuri de molecule individuale ale matricei extracelulare. De exemplu, colagenul de tip I creşte proporţional mai mult decât alte tipuri de colagen, iar dintre proteoglicani, creşterea dermatansulfatului este predominantă;
3) apariţia unor modificări subtile ale microcompoziţiei diferitelor tipuri de molecule ale matricei extracelulare. Astfel de modificări pot afecta gradul de hidroxilare a lanţurilor de colagen sau gradul de sulfatare a proteoglicanilor.
4) o redistribuire topografică a matricei extracelulare în ficatul lezat ceea ce duce la o acumulare de ţesut conjunctiv localizat subendotelial mai ales în spaţiul Disse (fibroză perisinusoidală).

Se consideră că tocmai această fibroză perisinusoidală ar reprezenta mecanismul prin care se ajunge la suferinţa parenchimului, deoarece se perturbă difuzarea oxigenului şi substanţelor nutritive spre hepatocite şi se reduce fluxul sanguin intrasinusoidal. Necroza consecutivă a hepatocitelor poate antrena un proces inflamator care aduce după sine fibroza, instituindu-se astfel un cerc vicios (vezi fig.5.6.) (13).

Principalele probleme ridicate de un astfel de proces se referă la tipul de celule implicate în fibrogeneză şi la mecanismele prin care astfel de celule ajung să producă un exces de molecule (modificate) în matricea extracelulară a ficatului. Prin tehnici de izolare şi de cultivare a diferitelor tipuri de celule din ficat s-a putut ajunge la o mai bună cunoaştere a distribuţiei cantitative a acestor tipuri de celule şi s-a încercat o evaluare a rolului lor în patogeneza fibrozei hepatice.

Astfel, hepatocitele reprezintă 65% din numărul relativ de celule din ficat, iar restul de 35% este alcătuit din diferite tipuri de celule sinusoidale neparenchimatoase, între care sunt de menţionat celulele endoteliale, celulele Kupffer şi aşa-zisele lipocite. Acestea din urmă, cunoscute şi sub denumirea de celule parasinusoidale sau celule de stocare a vitaminei A, sunt localizate în spaţiile Disse, cuibărite în recesurile dintre hepatocitele adiacente (vezi fig.5.7) şi reprezintă principalele producătoare de ţesut conjunctiv în ficatul lezat. De fapt, sub acţiunea diverselor citokine generate în cursul inflamaţiei de către limfocite, monocite şi celule Kupffer (macrofagele ficatului), lipocitele se transformă în celule de tip miofibroblastic, proliferează şi sintetizează activ un spectru larg de componente ale matricei extracelulare, între care sunt de menţionat colagenul (mai ales tip I), proteoglicanii şi fibronectina. S-a mai precizat că principalul agent care determină activarea lipocitelor este factorul de creştere transformant (Transforming Growth Factor , TGF-β), provenit din diverse surse cum ar fi celulele

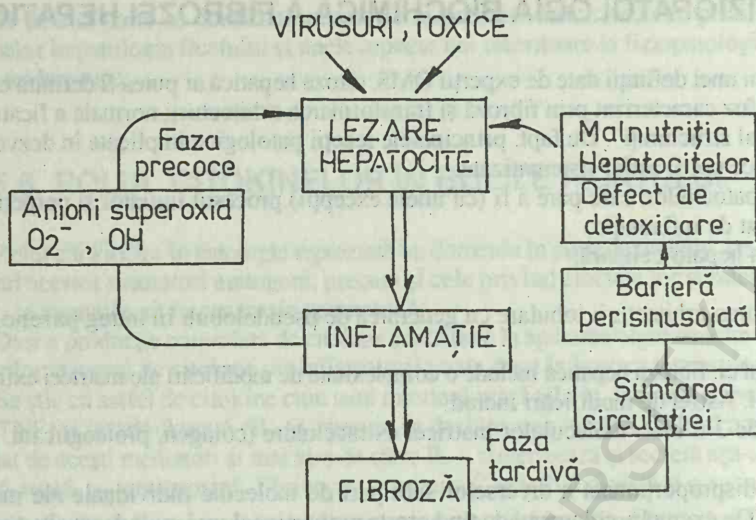


Fig.5.6. Mecanism în cerc vicios al proceselor care duc la fibrogeneza hepatică. În faza precoce produşii celulelor inflamatorii (radicali superoxid şi proteaze) induc leziuni ale hepatocitelor, sumându-se cu efectul agenţilor nocivi exogeni. Aceste leziuni pot ajunge până la necroză celulară care iniţiază fibrogeneza. În faza tardivă, depunerea în exces a matricei extracelulare în spaţiile Disse (perisinusoidal) perturbă difuziunea substanţelor nutritive spre hepatocite şi reduce funcţia antitoxică a ficatului.

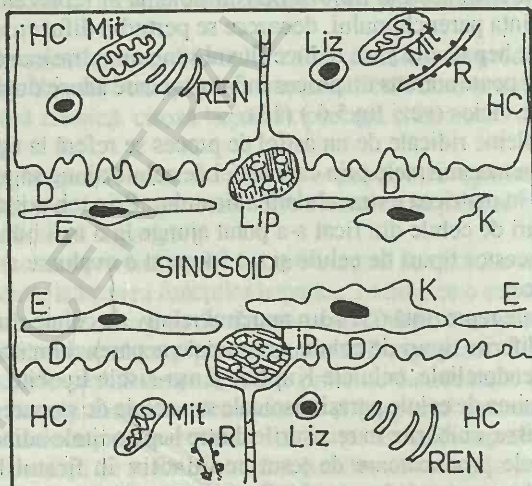


Fig.5.7. Localizarea lipocitelor (Lip.) în recesurile unor celule hepatice parenchimatoase (HC) adiacente. Lipocitele, cunoscute şi sub denumirea de celule de stocare a vitaminei A, sau de celule Ito, se află în contact direct atât cu hepatocitele cât şi cu spaţiile perisinusoidale ale ficatului (spaţii Disse-D); E = celule endoteliale; C = celule Kupffer; Mit = mitocondrii; Liz = lizozomi; REN = reticul endoplasmatic neted; R = ribozomi.

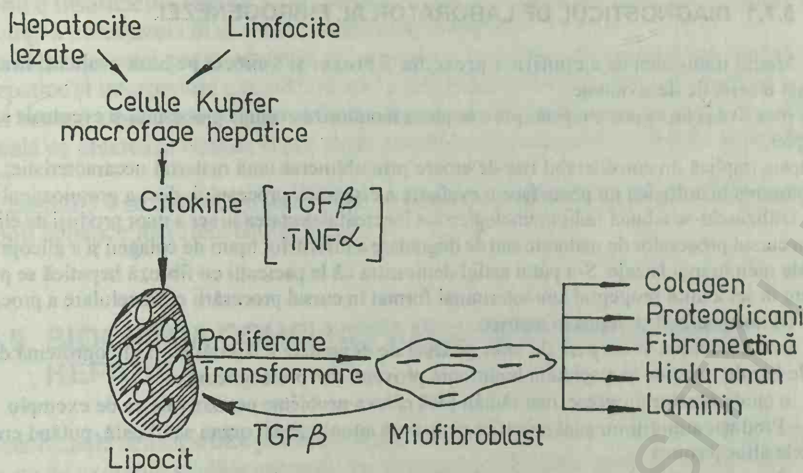


Fig.5.8. Sub acţiunea citokinelor proinflamatorii, ca de exemplu factorul de necroză a tumorilor (TNF-α), şi mai ales sub acţiunea factorului de creştere transformant (Transforming Growth Factor β - TGF β), lipocitele din spaţiile perisinusoidale se transformă în celule de tip miofibroblast capabile să secrete diverse componente ale matricei extracelulare, precum şi TGF β, care exercită un efect de feed-back pozitiv. La activarea lipocitelor contribuie endoteliile, celulele Kupffer, hepatocitele în curs de regenerare şi plăcuţele sanguine, precum şi stimuli imuni proveniţi din anumite limfocite.

Kupffer, celulele endoteliale, plăcuţele sanguine, hepatocitele în curs de regenerare (dar nu şi cele normale). Chiar şi celulele de tipul miofibroblastelor provenite din lipocitele activate capătă proprietatea de a secreta TGFβ, creându-se astfel un mecanism de feed-back pozitiv autocrin (vezi fig.5.8). Pe de altă parte, hepatocitele normale secretă proteine care pot lega şi neutraliza TGFβ , modulând activitatea semnalelor de creştere şi diferenţiere a lipocitelor.

Stimularea sintezei de molecule, ale matricei extracelulare de către lipocitele transformate, se poate produce şi sub acţiunea acetaldehidei, derivate din alcool în hepatocite, precum şi sub acţiunea produşilor de peroxidare a lipidelor. Complexitatea interacţiunilor dintre fibrogeneză şi inflamaţie este ilustrată şi de observaţiile conform cărora celulele de tipul miofibroblastelor (derivate din lipocitele activate) sunt capabile de a secreta citokine proinflamatorii ca, de exemplu, IL-6, factorul 1 de stimulare a coloniilor (CSF-1), şi factor de creştere de tip insulinic (ILGF-1).

Acumularea de ţesut conjunctiv depinde nu numai de o creştere a producerii de colagen, proteoglicani şi glicoproteine, dar şi de o reducere a proceselor de degradare a matricei extracelulare. La ora actuală există încă doar puţine date privind intervenţia metaloproteinazelor (colagenază, gelatinază, stromelizin) în procesul de remaniere a matricei extracelulare din interstiţiul ficatului. Se ştie astfel că stromelizina poate degrada fibronectina, laminina, colagenul şi o serie de proteoglicani, dar că ficatul este lipsit de enzimele lizozomale care degradează dermatansulfatul (proteoglicanul care se acumulează cel mai mult în cursul fibrozei hepatice) (13).

5.7.1. DIAGNOSTICUL DE LABORATOR AL FIBROGENEZEI

Modul tradițional de a confirma prezența fibrozei și a cirozei pe baza evaluării histologice prezintă o serie de dezavantaje:
a) este invazivă și nu se poate repeta spre a se putea monitoriza evoluția procesului și eventuala eficacitate a terapiei;
b) biopsia implică un considerabil risc de eroare prin obținerea unui material necaracteristic;
c) explorarea histologică nu poate face o evaluare a dinamicii procesului, deci a prognosticului.

Utilizându-se tehnici radioimunologice s-a încercat detectarea în ser a unor produși de clivare formați în cursul proceselor de maturare sau de degradare a diferitelor tipuri de colagen și a glicoproteinelor asociate membranei bazale. S-a putut astfel demonstra că la pacienții cu fibroză hepatică se produce o creștere în ser a unui propeptid aminoterminal format în cursul procesării extracelulare a procolagenului tip III nou secretat și depus în matrice.

S-au evidențiat și creșteri ale unor produși de degradare a lamininei, o glicoproteină din membranele bazale, precum și a acidului hialuronic provenit din proteoglicani.

În ciuda acestor progrese, mai rămân încă câteva probleme nerezolvate ca de exemplu:

- Produșii amintiți nu sunt specifici pentru un anumit țesut, organ sau boală, putând crește și în fibrozele altor țesuturi.

- Nu s-a putut încă preciza în ce măsură creșterea acestor markeri este o consecință a sintezei accelerate de proteine sau glicoproteine din matricea extracelulară sau apar ca rezultat a unor perturbări a vitezei de catabolizarea sau de eliminare.

- Nu sunt suficient de bine elucidate căile prin care compușii derivați din țesutul conjunctiv al ficatului ajung în circulația sistemică.

Efectuate seriat la diferite intervale de timp și interpretate în lumina datelor clinice și în ansamblul datelor de laborator explorările mai sus menționate pot totuși furniza relații asupra procesului de fibroză (14).

5.8. EVALUAREA CRITICĂ A EXPLORĂRILOR BIOCHIMICE ÎN BOLILE FICATULUI

Problemele legate de interpretarea diferitelor teste de explorare a ficatului, în variate forme clinice și variante ale bolilor acestui organ, se pretează la ample discuții. Este suficient să amintim că în hepatologia clinică editată de Kühn și Wernze (17), probele funcționale, scrise de 28 de colaboratori, însumează 128 de pagini. Deși relativ restrâns, materialul prezentat în acest capitol, coroborat cu datele prezentate în capitolele 2, 3 și 4 referitoare la proteinele plasmatice, la patologia enzimelor și a biochimiei secreției biliare, este totuși în măsură să orienteze cititorul în privința posibilităților de detectare prin explorări biochimice a principalelor sindroame care survin în bolile ficatului. De notat că aceste explorări se întregesc prin utilizarea metodelor imagistice, prin explorări imunochimice și prin investigații de histopatologie.

Din motive didactice, diversele teste de explorare a ficatului au fost sistematizate în 4 grupe, în funcție de procesul patologic pe care îl decelează cu predominanță. Ca și în cazul oricărei tentative de clasificare, cea din prezentul volum are un caracter relativ. Așa de exemplu, un proces inflamator cronic poate duce atât la o infiltrație limfoplasmocitară și implicit la creșterea imunoglobulinelor, cât și la modificări ale permeabilității membranei hepatocitelor. Totodată, ca urmare a producerii și eliberării de citokine proinflamatorii, are loc o "comutare" a sintezei de proteine, prin care creșterea unor proteine de fază acută se asociază cu scăderea nivelului seric al altor proteine de secreție hepatică cum sunt albumina și colinesteraza. Scăderea acestor proteine și enzime de secreție hepatică nu implică deci în mod

obligatoriu o insuficienţă hepatică. De asemenea, creşterea acizilor biliari în ser poate fi atât o consecinţă a colestazei cât şi a unei insuficienţe hepatice.

Nu este însă mai puţin adevărat că urmărirea în dinamică a diferitelor categorii de probe hepatice şi interpretare a rezultatelor în lumina datelor clinice şi imagistice sunt de regulă în măsură să prezinte o imagine destul de aproape de realitate a fenomenelor ce au loc într-o boală ce afectează ficatul, şi pot chiar contribui la o clasificare biochimică a bolilor hepatice.

În tabelul 5.4 se încearcă o prezentare sinoptică a comportării probelor de laborator în câteva boli hepatice mai frecvent întâlnite.

5.9. BIOCHIMIA COMEI HEPATICE. ENCEFALOPATIA HEPATICĂ

Fenomenele neuropsihice pot surveni atât în cursul agravării unei insuficienţe hepatice cronice, ca de exemplu stadiile avansate ale unei ciroze decompensate parenchimatos, cât şi ca urmare a unei insuficienţe hepatice fulminante. Aceasta poate apare în cadrul unei hepatite acute virale, sau în urma unei supradozări de paracetamol, precum şi unele cazuri de anestezie cu halotan.

Diagnosticul clinic nu este dificil atunci când, în cazul unui bolnav cu icter pronunţat, se constată o alterare rapidă a stării de cunoştinţă. Nu trebuie uitat însă că în unele cazuri encefalopatia poate precede icterul.

Probele de laborator indică o creştere accentuată a transaminazelor (ASAT, ALAT) şi o prelungire evidentă a timpului de protrombină. Aşa cum s-a arătat anterior, în cazurile supraacute, activitatea colinesterazei serice, o enzimă cu un timp de înjumătăţire relativ lung (10-14 zile), nu ajunge să scadă la valori corespunzătoare gravităţii insuficienţei hepatice.

Se constată însă hipoglicemie, consecutivă atât deficitului de captare şi inactivare hepatică a insulinei, cât şi mai ales insuficienţei proceselor de glicogenoliză şi gluconeogeneză, apărute ca o consecinţă directă a necrozei hepatice masive. La acestea se adaugă anomalii complexe ale electroliţilor plasmatici (hiponatremie, hipopotasemie) şi ale echilibrului acidobazic (vezi cap. 8), iar frecventa alterare concomitentă a funcţiei renale duce la creşterea în sânge a ureei şi a creatininei.

Patogeneza encefalopatiei hepatice se datorează însă mai ales retenţiei în circulaţie a unor toxice endogene particulare. Aşa cum s-a arătat anterior, **creşterea în sânge a amoniacului** a fost mult timp considerată ca fiind principala cauză a encefalopatiei hepatice. De fapt, injectarea animalelor de experienţă cu săruri de amoniu duce la comă reversibilă, iar administrarea, pe cale orală, de uree, săruri de amoniu sau chiar o dietă deosebit de bogată în proteine pot precipita coma la animalele cu şunt porto-cav sau la bolnavii cu ciroză hepatică. Pe de altă parte, nu s-a putut stabili o corelaţie între nivelul amonemiei şi gravitatea encefalopatiei hepatice (cunoscută şi sub denumirea de encefalopatie portală).

În ultimii ani se insistă asupra rolului jucat de creşterea nivelului plasmatic de aminoacizi şi în special de **valorile mult crescute ale acizilor aminaţi aromatici** (fenilalanină, tirozină). Prin trecerea acestor aminoacizi în creier şi în urma decarboxilării lor rezultă tiramină şi feniletanolamină, care, având o structură analoagă adrenalinei, interferă la nivelul mediaţiei adrenergice.

La tiramină şi feniletanolamină produse în creier, se adaugă compuşi rezultaţi în intestin prin decarboxilarea acizilor aminaţi aromatici, sub acţiunea florei microbiene. Deoarece

Tabel 5.4.

Reprezentarea schematică a comportării principalelor teste biochimice de explorare a ficatului în câteva boli hepatice mai frecvent întâlnite.
Prescurtări folosite: ASAT = aspartataminotransferază; ALAT = alaninaminotransferază; LDH = lactatdehidrogenază; GLDH = glutamatdehidrogenază; CHE = colinesterază; Fact. coag. = factorii complexului protrombinic; AlP = fosfataza alcalină; γGT = gamaglutamiltransferază; Alb. = albumină serică; Ac.bil. = acizi biliari serici; Bilirub. = bilirubină serică; Clear Ap. = clearance antipirinic; LpX = lipoproteina X; N = în limite normale.

Natura bolii	Imunoglobuline	Teste de creştere a permeabilităţii membranei	Indicatori ai funcţiei	Indicatori ai colestazei	Observaţii
Hepatită acută	IgG: N–↑ IgA: N–↑ IgM: ↑↑	ASAT: ↑↑–↑↑↑↑ ALAT: ↑↑↑–↑↑↑↑ GLDH: ↑–↑↑↑	Alb.: N–↓ CHE: ↓–↓↓ Fact.Coag.: ↓↓–↓↓↓ Clear Ap: nu se face	ALP: ↑↑–↑↑↑ γGT: ↑↑–↑↑↑ Ac.Bil.: ↑↑–↑↑↑ Bilirub.: N–↑↑↑	Forme de gravitate diferită. Se va căuta precizarea etiologiei (Ag HBc etc.)
Intoxicaţie acută (Cl_4C, ciuperci etc.)	Puţin modificate	ASAT: ↑↑↑↑↑↑ ALAT: ↑↑↑↑ LDH: ↑↑↑↑ GLDH: ↑↑↑↑	Alb.: N–↓ CHE: ↓–↓↓ Fact.Coag.: ↓↓↓↓ Clear Ap: nu se face	ALP: ↑↑–↑↑↑ γGT: ↑↑–↑↑↑ Ac.Bil.: ↑↑–↑↑↑ Bilirub.: ↑↑↑	Analiza toxicologică. Anchetă la locul de muncă. Informaţii de la aparţinători
Hepatită cronică progresivă	IgG: ↑↑↑↑ IgA: ↑↑ IgM: ↑↑	ASAT: ↑↑↑ ALAT: ↑↑ GLDH: ↑↑	Alb.: ↓–↓↓ CHE: ↓–↓↓ Fact.Coag.: ↓–↓↓ Clear Ap: ↓–↓↓	ALP: ↑↑ γGT: ↑↑ Ac.Bil.: ↑↑ Bilirub.: N–↑↑	Agravări corespunzând unor puseuri necrotice. Se va preciza etiologia
Hepatită cronică persistentă	IgG: ↑ IgA: ↑ IgM: N–↑	ASAT: N–↑ ALAT: N–↑ GLDH: N–↑	Alb.: N CHE: N–↓ Fact.Coag.: N Clear Ap: N	ALP: N γGT: N–↑ Ac.Bil.: N–↑ Bilirub.: N	Nu se exclude riscul trecerii într-o formă activă
Alcoolism cronic	IgG: N–↑ IgA: ↑–↑↑ IgM: N–↑	ASAT: ↑↑–↑↑↑ ALAT: ↑–↑↑ GLDH: N–↑↑	Alb.: N CHE: variabil Fact.Coag.: N Clear Ap: N	ALP: ↑ γGT: ↑↑↑↑ Ac.Bil.: N–↑ Bilirub.: N–↑	Steatoză hepatică. Aminotransferazele cresc în puseuri în legătură cu abuz de alcool, când şi Ac.bil. şi bilirub. cresc. Evoluţie spre ciroză
Ciroză decompensată	IgG: ↑↑–↑↑↑↑ IgA: ↑↑–↑↑↑ IgM: ↑–↑↑	ASAT: N–↑↑ ALAT: N–↑ GLDH: N–↑↑	Alb.: ↓↓ CHE: ↓↓↓–↓↓↓↓ Fact.Coag.: ↓–↓↓↓ Clear Ap: ↓↓↓–↓↓↓↓	ALP: ↑ γGT: ↑–↑↑ Ac.Bil.: ↑↑–↑↑↑ Bilirub.: ↑–↑↑↑	Variaţii în funcţie de puseuri evolutive (necrotice) când ASAT > ALAT iar icterul se accentuează
Colestază intrahepatică (ciroză biliară)	IgG: ↑–↑↑↑ IgA: ↑–↑↑ IgM: ↑↑–↑↑↑↑	ASAT: ↑–↑↑ ALAT: ↑–↑↑ GLDH: ↑–↑↑	Alb.: ↓ CHE: ↓–↓↓↓↓ Fact.Coag.: ↑ Clear Ap: ↓↓–↓↓↓	ALP: ↑↑↑–↑↑↑↑ γGT: ↑↑↑↑↑ Ac.Bil.: ↑↑↑↑ Bilirub.: ↑–↑↑↑	Evoluţie destul de lungă; Creşteri ale C_3, haptoglobinei, ceruloplasminei AT III, inhibitorii fibrinolizei a_1AT LpX: +
Colestază extrahepatică (icter mecanic)	IgG: N–↑ IgA: N–↑ IgM: N–↑ (neconcludent)	ASAT: N–↑↑ ALAT: N–↑ GLDH: N–↑	Alb.: ↓ CHE: ↓↓↓ Fact.Coag.: N–↓↓ Clear Ap: N–↓↓	ALP: ↑↑↑↑ γGT: ↑↑↑↑↑ Ac.Bil.: ↑↑↑↑ Bilirub.: ↑↑↑↑	Probele funcţionale se alterează dacă obstrucţia persistă; factorii coagulării pot fi iniţial normali sau chiar crecuţi dar scad când survine un deficit de Vit.K. Se va căuta etiologia (neoplasm de cap de pancreas, calculi) LpX: +++
Procese tumorale hepatice (primitive sau metastatice)	IgG: N–↑ IgA: N–↑ IgM: N–↑ (neconcludent)	ASAT: N–↑↑ ALAT: N–↑ GLDH: N–↑ (neconcludent)	Alb.: N–↓ CHE: N–↓ Fact.Coag.: N–↑–↓ Clear Ap: N–↓–↑ (neconcludent)	ALP: ↑↑–↑↑↑ γGT: ↑↑–↑↑↑↑ Ac.Bil.: N–↑ Bilirub.: N–↑	Nu se referă la neoplasmele care evoluează cu icter mecanic. AlP şi γGT cresc progresiv de la o examinare la alta. In adenocarcinomul hepatic creşterea α-fetoproteinei. Se recurge la explorări imagistice ale ficatului şi explorarea radiologică a tubului digestiv.

ficatul insuficient nu poate capta şi degrada aminele aromatice absorbite din intestin, concentraţia acestora va creşte în sânge. Remarcabilă este observaţia conform căreia scăderea concentraţiilor plasmatice de fenilalamină şi tirozină precede revenirii stării de cunoştinţă a bolnavilor cu encefalopatie hepatică supuşi hemodializei. S-a incriminat şi rolul patogen al altor metaboliţi. Aşa de exemplu, nivele plasmatice crescute de metionină ar favoriza producerea de mercaptani, iar insuficienţa hepatică se însoţeşte de regulă şi de creşteri ale concentraţiilor serice de acizi graşi liberi şi de acizi biliari. Este mai probabil că diversele anomalii metabolice mai sus semnalate se sumează şi îşi potenţează reciproc efectele (27).

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1.Adolph L., Lorenz R. Enzyme diagnosis in diseases of the heart, lung, liver and pancreas. S.Karger - Basel, München, Paris, London, New York, Sydney, 1982.

2.Bedeleanu D., Trif I., Lötsch I.C., Cucuianu M. Increased values of antipyrine in type IV hyperlipoproteinemia. Rev.Roum.Med.Int., 1986, 24, 183-190.

3.Berk P.D., Javitt N.B. Hyperbilirubinemia and cholestasis. Amer.J.Med, 1978, 64, 311-326.

4.Cederblad G., Korsan-bemgtsen K., Olsson R. Observation of increased levels of blood coagulation factors in cholestatic liver disease. Scand.J.Gastroenterol., 1976, 11, 391-396.

5.Cucuianu M., Hărăguş S., Popescu T.A. Pseudocolinesteraza serică şi funcţia proteosintetică a ficatului. Stu. Cerc. Med.Int., 1969, 10, 15-28.

6.Cucuianu M., Zdrenghea D., Pop M., Opincaru A. Increased serum γ-glutamyltransferase in hypertriglyceridemia; comparison with serum pseudocholinesterase. Clin.Chim.Acta, 1976, 71, 419-427.

7.Cucuianu M., Opincaru A., Tapalagă D. Similar behaviour of lecithin cholesterolacyl transferase and pseudocholinesterase in liver disease and hyperlipoproteinemia. Clin. Chim.Acta, 1978, 85, 73-79.

8.Cucuianu M., Vlaicu R., Popescu T.A., Hoinărescu E., Pintea L., Costin-Puşcaş M., Pop M. Behaviour of -glutamyltransferase in chronic consumers of alcohol. Rev.Roum.Med.Int., 1980, 18, 189-195.

9.Cucuianu M., Trif I., Cucuianu A. Hemostaza. Biochimie, Fiziopatologie, Clinică, Editura Dacia, Cluj -Napoca, 1994.

10.Fausa O., Gjone F. Serum bile acid concentration in patients with liver disease. Scand.J.Gastroenterol., 1976, 11, 537-543.

11.Goedde H.W., Doenicke A., Altland K. Pseudocholinesterasen (pharmakogenetik, Biochemie, klinik). Ed.Springer - Berlin, heildelberg, New York, 1967.

12.Goldberg D.M. Structural, functional and clinical aspects of -glutamyltransferase. Critical Review in Clinical Laboratory Sciences 1980, 12, 1-58.

13.Gressner A.M. Liver fibrosis: perspectives in pathobiochemical research and clinical outlook. Eur.J.Clin.Chem.Clin.Biochem., 1991, 29, 293-311.

14.Gressner A.M., Tittor W., Negwer A., Pick-Kober K.H. Serum concentration of laminin and aminoterminal propeptide of type III collagen in relation to portal venous pressure of fibrotic liver disease. Clin.Chim.Acta., 1986, 161, 249-258.

15.Grigorescu M., Tapalagă D., Dumitraşcu D. Patologia clinică a acizilor biliari Ed. Dacia, Cluj-Napoca, 1983.

16.Iwamura K. Bile acid metabolism and liver disease. Das Medizinische Prisma; 1982, 3, 1-27.

17. Kühn H.A., Wernze H. Klinische Hepatologie. Ed.G.Thieme, Stuttgart, 1979.

18.Mendenhall C.L., Weesner R.E. Alcoholism, in Kaplan and Pesce (eidtors):Clinical Chemistry. Ed.C.V.Mosby; St.Louis-Toronto-Princenton, 1984, 595-610.

19.McIntre: the liver, in Williams and Marks (Editors): Biochemistry in Clinical Practice; W.Heinemann Medical Books, London, 1983, pp.139-154.

20. Mircea P., Cucuianu M., Mădăruşan Vulcan G., Vlaicu R. Value of gamma-glutamyltransferase in the diagnosis of liver metastases. Rev.Roum.Med.Int., 1981, 19, 339-345.

21.Paramo J.A., Rocha E. Hemostasis in advanced liver disease. Seminars in thrombosis and hemostasis, 1993, 19, 184-190.
22.Sherlock S. Diseases of the liver and biliary system. Ed.Blackwell, London, 1975.
23.Skrede S., Blomhoff I.P., Gjone E. Biochemical features of acute and chronic hepatitis. Annals of Clinical Research, 1976, 8, 182-199.
24.Spoelstra P. Antipyrine metabolism in liver disease. Doctoral Thesis, University of Leiden, 1986.
25.Szantay I., Cotul O., Gidali M. La determination de la demi-vie (T/2) de la Se-methionine du sang et l'etude de la vitesse de son incorporation dans les proteines plasmatiques. Rev.Int.Hepatol., 1968, 18, 683-688.
26.Tapalagă T., Opincaru A., Cucuianu M. Hepatic secretion enzymes and electrophoretic lipoprotein fractions in liver disease. Acta Hepato-Gastroenterol., 1979, 26, 9-16.
27.Silk D.B.A., Williams R. Clinical Biochemistry of the artificial liver. In Williams and Marks (Editors). Biochemistry in Clinical practice. William Heinemann medical book limited. London, 1983, 164-173.
28.Borden E.C., Ball A.L. Interferons: Biochemical cell growth inhibitory and immunological effects; in Progress in Haematol. 1985, pp 299-336.

ÎNTREBĂRI DE CONTROL

1. Stabiliţi corespondenţa între grupele de analize de mai jos şi procesul patologic pe care îl reflectă cu predominanţă:

A. Creşterea imunoglobulinelor a fracţiunii electroforetice γ, pozitivarea testelor de disproteinemie	I. Creşterea permeabilităţii membranei hepatocitelor
B. Creşterea aminotransferazelor (ASAT, ALAT)	II. Alterarea funcţiei proteosintetice a ficatului
C. Creşterea activităţii serice a fosfatazei alcaline şi a γ-glutamiltransferazei	III. Infiltraţie limfoplasmocitară în interstiţiul ficatului
D. Scăderea colinesterazei serice şi a nivelului plasmatic al factorilor coagulării dependenţi de vitamina K	IV. Proces de colestază

2. Creşterea γ-globulinelor la valori de peste 30% din proteinele totale ale serului se poate întâlni în:

A. Ciroza hepatică
B.Endocardita infecţioasă
C. Poliartrita reumatoidă
D. Hepatita cronică progresivă
E. În toate aceste situaţii
F. În nici una.

3. Raportul De Ritis reprezintă:

A. Raportul ASAT/ALAT
B. Raportul fosfatază alcalină/ γGT
C. Raportul colinesterază/factor VII al coagulării.

4. În care din situaţiile de mai jos se constată cele mai mari creşteri ale ASAT, ALAT, GLDH şi LDH 4-5:

A. Ciroză hepatică
B. Hepatită cronică stabilizată
C. Infarct miocardic
D. Intoxicaţie cu ciuperci sau cu CCl_4.

5. Creşterea mai exprimată a ALAT faţă de ASAT într-o hepatită acută de gravitate moderată se datorează:

A. Faptului că timpul de înjumătăţire în plasmă (T/2) al ALAT este mai prelungit decât cel al ASAT
B. Faptului că ALAT se află într-o concentraţie mai mare în hepatocitele de la periferia lobulului hepatic
C. Faptului că ALAT este localizat doar în citoplasmă, pe când ASAT se află atât în citoplasmă cât şi în mitocondrii.
D. Toate aceste explicaţii sunt valabile
E. Nici una.

6. Creşterea exprimată a fosfatazei alcaline şi a γGT la un bolnav cu icter mecanic se poate datora:
A. unui proces de inducere microsomală
B. efectului dizolvant al acizilor biliari reţinuţi în sânge asupra membranei lipoproteice a hepatocitelor
C. ambele explicaţii sunt plauzibile
D. nu există încă o explicaţie acceptabilă.

7. În care din situaţiile de mai jos nu se constată de regulă o scădere a activităţii colinesterazei serice ci dimpotrivă o creştere a acestei enzime:
A. ciroză hepatică decompensată parenchimatos
B. intoxicaţie cu organofosforice
C. anemie megaloblastică
D. mixedem
E. reacţie de fază acută
F. sindrom nefrotic
G. obezitate androidă

8. Bolnav de 68 de ani cu ficat mărit, neregulat, la care aminotransferazele sunt uşor crescute (1,5-2 ori limita superioară a normalului); testele de disproteinemie în limite normale; colinesteraza serică la limita inferioară a normalului; fosfataza alcalină şi γGT mult crescute (5 ori şi respectiv 10 ori limita superioară a normalului) şi având tendinţa de creştere progresivă. Situaţia cadrează cu:

A. ciroză hepatică decompensată parenchimatos
B. hepatită cronică stabilizată
C. proces tumoral hepatic primitiv sau metastatic
Care din explorările de mai jos ar fi cele mai indicate pentru precizarea diagnosticului:
a. explorare radiologică a tractului digestiv
b. ecografie hepatică şi eventual puncţie biopsie ecoghidată
c. dozarea α-fetoproteinei
d. dozarea 17 cetosteroizilor urinari
e. dozarea sideremiei

9. Care din enzimele de mai jos prezintă cea mai exprimată creştere la un alcoolic:
A. ASAT
B. ALAT
C. Colinesteraza serică
D. Fosfataza alcalină
E. γ-GT (γ-glutamiltransferaza)

10. Creşterea concentraţiei serice a acizilor biliari se întâlneşte în:
A. ciroza biliară
B. icter mecanic
C. insuficienţa hepatică
D. în toate aceste stări patologice
E. în nici una.

11. Care dintre variabilele arătate mai jos scade mai mult şi mai precoce în cazul unei insuficienţe hepatice instalate rapid:
A. colinesteraza serică
B. factorul VII al coagulării
C. colesterolul seric
D. factorul VIII al coagulării
E. albumina serică

12. O creştere a retenţiei de BSP poate surveni în:
A. insuficienţa hepatică
B. icter mecanic
C. insuficienţă cardiacă şi ficat de stază
D. în toate aceste situaţii
E. în nici una.

13. Stabiliți corespondența între variațiile suferite de activitatea serică a γGT și următoarele stări patologice:

A. Subiect alcoolic supus unui sevraj (oprirea consumului de alcool)	I. Activitatea γGT crește progresiv de la o examinare la alta
B. Bolnav cu metastaze hepatice ale unui carcinom gastric	II. Activitatea γGT tinde să scadă fără a atinge însă valorile normale
C. Bolnavă cu ciroză biliară	III. Activitatea γGT se menține crescută în platou cu mici fluctuații

14. În cirozele hepatice se constată creșteri cu caracter policlonal ale gamaglobulinelor serice **deoarece** astfel de creșteri interesează mai multe clase de imunoglobuline.

15. Într-o insuficiență hepatică fulminantă activitatea colinesterazei serice nu reflectă fidel gradul de afectare a ficatului **deoarece** într-o astfel de situație survine o creștere a amoniacului în sânge.

16. Metastazele hepatice ale unui neoplasm gastric evoluează cu o creștere importantă și progresivă a γ-glutamiltransferazei **deoarece** în astfel de cazuri se ajunge de regulă și la o creștere monoclonală a gamaglobulinelor serice.

17. Nivelul seric al acizilor biliari nu crește în cazurile de insuficiență hepatică **deoarece** acizii biliari sunt sintetizați în ficat.

18. În cazul unui bolnav alcoolic, fosfataza alcalină crește mult mai mult decât γ-glutamiltransferaza **deoarece** ultima din enzimele menționate (adică γ-GT) provine mai ales din osteoblaste.

19. Scăderea nivelului plasmatic de factor VII al coagulării survine mai rapid decât scăderea colinesterazei serice, **deoarece** T/2 al factorului VII este mult mai scurt decât cel al colinesterazei.

Cheia la întrebările 14-19:

a. ambele afirmații corecte și legate cauzal
b. ambele afirmații corecte dar nelegate cauzal
c. prima afirmație corectă, a doua incorectă
d. prima afirmație incorectă, a doua corectă
e. ambele afirmații incorecte

6. METABOLISMUL FIERULUI, CUPRULUI ŞI ZINCULUI

Făcând o comparaţie cu conţinutul organismului unui adult în alte metale, ca de exemplu calciu 1000 g, potasiu 160g, sodiu 80 g, magneziu 24-30 g, cantitatea de fier este în medie de abia 4 g, cea de zinc de 1,7 g iar cea de cupru ajunge la cel mult 0,13 g. Deşi aflate în cantităţi relativ reduse, fierul, cuprul şi zincul au o deosebită importanţă fiziologică, iar deficitele duc la perturbări funcţionale şi chiar la leziuni morfologic evidente.

6.1. DISTRIBUŢIA FIERULUI ÎN ORGANISM. COMPUŞI CONŢINÂND FIER

S-a estimat că în toată lumea ar exista 500 milioane de persoane cu deficit de fier şi s-a considerat că schimbarea de la tipul carnivor al alimentaţiei vânătorului din paleolitic (bogată în fier) la o alimentaţie predominant cerealieră (săracă în fier), caracteristică civilizaţiilor bazate pe agricultură, ar putea explica, cel puţin în parte, marea incidenţă a carenţei de fier (8).

Aşa cum reiese din tabelul 6-1, cea mai mare parte a celor 4000 mg fier din organismul unui adult se găseşte sub formă de combinaţie cu porfirinele, realizând compusul denumit hem (feroprotoporfirina 9). Moleculele de hem aflate în combinaţie cu diverse proteine alcătuiesc hemoproteinele (hemoglobină, mioglobină, hemine celulare). Aproximativ 25% din fierul organismului reprezintă forma de stocare sub formă de feritină şi hemosiderină, iar mai puţin de 1% se găseşte în plasmă şi în lichidul interstiţial fiind legat de o beta-globulină transportoare numită transferina.

6.1.1. HEMOPROTEINE

Hemoproteinele sunt forme moleculare active în transportul, stocarea şi activarea oxigenului, intervenind şi în procesele de oxidoreducere.

Hemoglobina. Alcătuită din patru molecule de hem legate de cele patru lanţuri peptidice ale globinei, hemoglobina are o greutate moleculară de 67.000 fiind localizată doar în hematii. Fiecare gram de hemoglobină conţine 3,38 mg fier, adică aproximativ 1 g fier la 1 kg globule roşii normale, iar rolul fiziologic al acestei hemoproteine constă în fixarea reversibilă a oxigenului, pe care îl transportă prin sânge de la plămâni la ţesuturi, precum şi prin intervenţia sa în echilibrul acido-bazic. Anomaliile cantitative şi calitative ale hemoglobinei constituie în primul rând o problemă de hematologie şi vor fi prezentate în acest capitol doar în legătură cu anomaliile în economia fierului.

Mioglobina. Această hemoproteină cu greutate moleculară de 17.000 este alcătuită dintr-o singură moleculă de hem legată de o proteină şi are rolul de a stoca, la nivelul musculaturii,

Tabel 6.1.

Repartizarea fierului în organism

Forma sub care se găsește	mg Fe	Procent din fierul total	Localizare	Funcția
A. Fier legat de porfirine 1. Hemoglobină 2. Mioglobină 3. Hemine celulare	2600 130 aprox. 10	65% 3,25% 0,25%	eritrocite, musculatură, celule	Transportul de oxigen Stocarea oxigenului în musculatură Respirație celulară
B. Fier nelegat de porfirine 1. Feritină 2. Hemosiderină 3. Transferină	aprox. 700* aprox. 300* 7	17% 7% 0,17%	ficat, măduvă, splină, plasmă și lichid interstițial	Depozit de fier Transportul fierului
C. Fier nedeterminat (Formă neprecizată)	aprox. 235	6,33%	lichidul celular și extracelular fixat pe fosfați sau aminoacizi ?	?
Total	4000 mg*	100%	-	-

* Cantitățile de fier din depozite depind în mare măsură de masa corporală și de sex. Astfel, la bărbați depozitele de fier reprezintă 13 mg/kg greutate corporală iar la femeile premenopauzale fierul din feritină și hemosiderină este de abia 5 mg/kg. Ca urmare, și cantitățile totale de fier vor fi diferite în funcție de masa corporală și de sex, fiind de aproximativ 49 mg/kg la bărbat și de 40 mg/kg la femeia tânără.

oxigenul cedat de hemoglobină. De fapt afinitatea pentru oxigen a mioglobinei este de şase ori mai mare decât cea a hemoglobinei. Rezerva de oxigen fixată pe mioglobină este deosebit de importantă pentru asigurarea proceselor oxidative în cursul efectuării unui efort muscular intens într-un mediu sărac în oxigen. Conţinutul mediu de mioglobină al musculaturii unui adult este de 10 mg/kg masă musculară. Cantităţile de mioglobină mult sporite aflate în musculatura mamiferelor marine (foca, morsa, balena) reprezintă un mecanism adaptativ care le permite efectuarea de eforturi prelungite sub apă. De altfel şi la om conţinutul în mioglobină creşte prin antrenament şi scade în atrofiile musculare. Leziunile care determină degradări cu caracter acut ale musculaturii striate (rhabdomioliză, sindrom de strivire) sau ale miocardului (infarct) se asociază cu eliberarea de mioglobină care poate fi detectată prin metode imunochimice în ser sau în urină.

Heminele celulare. Având rolul de activare a oxigenului, citocromii şi citocromoxidazele localizate în mitocondrii asigură procesele de respiraţie celulară iar inactivarea lor prin cianuri sau oxid de carbon are consecinţe letale. O serie de citocromi (de ex. citocromul P_{450}, citocromul P_{448}) localizaţi în microsomi intervin însă în reacţii de hidroxilare a medicamentelor şi în general a xenobioticelor, având rol important în procesele de detoxifiere şi în genere de biotransformare. Tot hemoproteine sunt şi peroxidazele şi catalazele din sânge şi din ţesuturi. De notat existenţa unor sisteme enzimatice în care fierul nu este fixat sub formă de hem, fiind legat de proteine prin grupări conţinând sulf (De exemplu xantinoxidază, fenilalaninhidroxilază, tirozinhidroxilază).

6.1.2. FIERUL DE DEPOZIT (FERITINA ŞI HEMOSIDERINA)

Sub termenul de feritină este cuprins un grup de proteine (isoferitine) hidrosolubile, relativ termostabile şi având greutăţi moleculare în jur de 460.000. Moleculele de feritină alcătuite din subunităţi au o formă de sferă goală, miezul fiind umplut mai mult sau mai puţin cu incluziuni de fier (fosfathidroxid feric). Un astfel de complex poate conţine până la 4500 atomi de fier, dar de regulă doar 20 % din capacitatea de fixare a fierului este ocupată. În lipsa incluziunilor de fier se vorbeşte de apoferitină, iar dacă proporţia de fier pe unitatea de proteină depăşeşte 37% (în unele cazuri chiar 50%) iar complexele fier-proteină, incomplet învelite de subunităţile peptidice, se condensează şi devin insolubile se ajunge la aşa-numita hemosiderină. De cele mai multe ori 70% din fierul de depozit se găseşte sub formă de feritină, restul de 30% fiind reprezentat de hemosiderină. Creşterea concentraţiei de hemosiderină denotă o suprasaturare cu fier a feritinei iar granulele de hemosiderină pot fi puse în evidenţă prin colorarea lor în albastru cu ferocianură de potasiu (coloraţia Perls sau Albastru se Prusia). Cantitatea de fier depozitat diferă între cele două sexe, bărbaţii având în medie 13 mg fier de depozit pe 1 kg greutate corporală în timp ce înainte de menopauză, femeile conţin abia 5 mg fier de depozit/kg (8). Aşa cum se va arăta în cele ce urmează conţinutul în feritină al organismului este reglabil, sinteza de apoferitină crescând în condiţiile unei încărcări cu fier şi scăzând în caz de carenţă de fier. Din fericire, la ora actuală, modificările suferite de rezervele de fier pot fi evaluate indirect prin dozarea feritinei serice (oarecum diferită de feritinele celulare, cea serică fiind glicozilată şi lipsită de fier). S-a stabilit că pentru fiecare 8-10 mg fier depozitat corespunde 1 µg feritină serică/litru ser. De fapt concentraţia medie a feritinei serice este de 90 µg/l la bărbat şi de abia 30 µg/l la femeia tânără. Este important de ştiut că în cazul unui deficit de fier, nivelul feritinei serice scade (relativ precoce), pe când în cazul unei supraîncărcări cu fier, concentraţia serică a acestei proteine creşte evident (21). De notat însă că procesele inflamatorii, şi în special cele asociate cu leziuni hepatice, duc la creşteri

ale feritinei în ser, ceea ce limitează oarecum valoarea determinărilor de feritină serică în scopul evaluării rezervelor de fier din organism.

Fierul de rezervă are o deosebită importanță fiziologică, fiind în măsură să asigure, relativ rapid, prin mobilizare, un aport substanțial de fier, în cazul unor pierderi de sânge. În lipsa fierului de rezervă, singura sursă de fier ar fi dată doar de mica cantitate de fier absorbit din alimentație și care nu depășește 4 mg/zi chiar și în condițiile unei absorbții optime.

Cea mai mare parte a fierului de depozit și respectiv de feritină se găsește în ficat, măduvă osoasă și splină, iar durata de viață a unei molecule de feritină cu fier este de abia câteva zile, procesul permanent de degradare și resinteză asigurând ca rezervorul intracelular de fier să fie ușor accesibil mobilizării. Se consideră că învelirea incluziunilor de fier de către subunitățile proteice ale moleculei de feritină previne o eventuală acțiune toxică pe care fierul liber l-ar putea exercita asupra celulelor (2,4,8,10).

6.1.3. FIERUL DE TRANSPORT. TRANSFERINA

Întreaga cantitate de fier din plasmă și din lichidul extracelular se află fixată pe transferină (siderofilină), o betaglobulină cu greutate moleculară de 88.000, alcătuită dintr-un singur lanț peptidic și sintetizată de ficat. Transferina poate fixa doi atomi de fier trivalent, iar în funcție de numărul de atomi de fier fixați se disting forme apoferice (fără fier), monoferice (cu un atom de fier) și diferice (cu doi atomi de fier).

În condiții fiziologice, doar 30-40% din transferina plasmatică este încărcată cu fier. Capacitatea totală de fixare a fierului pe transferină poate fi dedusă prin calcul, știindu-se că fiecare moleculă de transferină (GM 88.000) poate fixa doi atomi de fier (2 x 55.85). Prin urmare, cele 260 mg transferină conținute în medie în 100 ml ser pot fixa 330 µg fier. Această valoare corespunde în genere cu dozările directe ale capacității totale de fixare a fierului (CTFF) efectuate prin încărcarea cu fier trivalent a serului și îndepărtarea prin adsorbție a fierului nefixat pe transferină. De notat că prin această metodă se pot obține ușoare supraevaluări a CTFF, întrucât o cantitate redusă dar variabilă de fier se poate fixa și pe alte proteine plasmatice.

Dozând însă prin metode imunochimice transferina (ca proteină) și înmulțind valoarea acesteia (exprimată în mg/dl) cu factorul 1.27 se poate obține o evaluare mai corectă a CTFF. De exemplu, 260 mg transferină/dl x 1.27 = 330 µg Fe/dl. Întrucât concentrația normală a fierului plasmatic (sideremia) este în medie de100 µg/dl rezultă că aproximativ 230 µg fier ar mai putea fi fixat pe transferina din 100 ml ser, această valoare reprezentând capacitatea latentă de fixare a fierului.

Este important de precizat că nivelele plasmatice de transferină cresc în cazul unui deficit de fier și scad în condițiile unei supraîncărcări cu fier, respectiv a creșterii conținutului în feritină al hepatocitelor. Având un timp de înjumătățire (T/2) de 4 zile, transferina asigură transportul plasmatic al fierului absorbit din intestin și a celui mobilizat din depozite, necesar sintezei hemoproteinelor. Captarea fierului legat de transferină, la nivelul țesuturilor este favorizată de posibilitatea trecerii acestor molecule proteice în lichidul interstițial și de prezența unor receptori pentru transferină aflați la suprafața celulelor. Astfel de receptori care captează și internalizează complexul transferină-fier au fost identificați în diverse țesuturi (ficat, placentă, unele tumori), dar densitatea maximă a acestor receptori se găsește la nivelul elementelor tinere ale seriei eritrocitare cu rol în sinteza hemoglobinei. De menționat că, întocmai ca și în cazul transferinei, receptorii celulari pentru transferină sunt reglabili, numărul lor crescând în carența de fier și scăzând în caz de supraîncărcare cu fier a organismului. Întrucât

o fracţiune a receptorilor pentru transferină se desprinde de pe suprafaţa celulelor şi trece în circulaţie, concentraţia lor plasmatică poate fi evaluată prin metode imunochimice (4,6).

6.2. CIRCUITUL FIERULUI ÎN ORGANISM

Introducerea studiilor cu fier radioctiv (^{59}Fe) a adus o contribuţie esenţială la descifrarea mecanismelor de care depinde economia fierului în condiţii fiziologice şi patologice şi care sunt reprezentate de absorbţia, transportul, utilizarea şi eliminarea fierului. Este important de precizat de la bun început că, la bărbaţi, pierderile de fier sunt reduse şi practic neinfluenţabile de cantitatea de fier din organism. În consecinţă economia fierului se reglează mai ales prin adaptarea mecanismelor implicate în absorbţie.

6.2.1. ABSORBŢIA FIERULUI

Alimentele cele mai bogate în fier sunt carnea, viscerele, peştele, gălbenuşul de ou, ardeiul,spanacul şi nucile, iar o dietă obişnuită aduce un aport zilnic de 7 mg fier pentru fiecare 1000 kilocalorii din hrană. Întrucât aportul caloric variază, aportul de fier poate oscila între 12 şi 26 mg zilnic. Din această cantitate, bărbatul adult absoarbe doar o mică fracţiune de aproximativ 1 mg, care de altfel este suficientă pentru compensarea pierderilor fiziologice. Procentul de fier absorbit creşte însă atunci când survine o necesitate sporită de fier, ca de exemplu la copilul în creştere, la femeia tânără care pierde sânge prin menstruaţie precum şi în ultimele luni de sarcină. Gradul de absorbţie depinde şi de forma sub care se administrează fierul din alimente. Aşa de exemplu fierul din hem este cel mai uşor absorbabil (20-40% în cazul unui subiect carenţat în fier). Fierul neheminic (trivalent) se absoarbe mai greu. În prezenţa vitaminei C şi în mediu acid fierul trivalent se reduce la forma feroasă (bivalent) care este mai uşor absorbabilă ajungând la o absorbţie de 10-30% la subiectul carenţat. Există indicii că, în soluţie acidă, fierul se leagă de mucine şi că trecerea lui în citosolul celulelor mucoasei duodenale este favorizată de o proteină din citosolul acestor celule, denumită mobilferină (4). Pe de altă parte, compuşii care formează complexe insolubile cu fierul, ca de exemplu fosfaţii din lactate precum şi oxalaţii şi acidul fitic din cereale, îi reduc gradul de absorbţie.

Reglarea absorbţiei de fier este posibilă graţie intervenţiei a două proteine din mucoasa intestinală (în special duodenală) şi anume feritina şi o proteină similară transferinei serice şi denumită transferina mucoasei. În cazul unei carenţe de fier creşte sinteza şi implicit concentraţia de transferină a mucoasei şi scade sinteza de apoferitină din celulele mucoasei duodenale, iar ca urmare fierul absorbit nu va fi fixat în celule sub formă de feritină ci va fi transferat spre plasmă (2,4,16). Pe de altă parte, în condiţiile unei supraîncărcări cu fier, se reduce sinteza de transferină a mucoasei, crescând însă producţia de apoferitină care fixează fierul în celule sub formă neabsorbabilă, fiind apoi îndepărtat din organism prin fecale atunci când celulele care l-au fixat se descuamează (vezi fig.6.1).

6.2.2. TRANSPORTUL ŞI UTILIZAREA FIERULUI

Asa cum reiese din figura 6.2, cea mai mare parte a fierului transportat zilnic prin plasmă (respectiv 90% din cele 35 mg fier vehiculate pe 24 de ore) se captează la nivelul măduvei osoase. Din aceste 32 mg de fier, captat zilnic de către măduvă, doar 21 mg (aproxima-

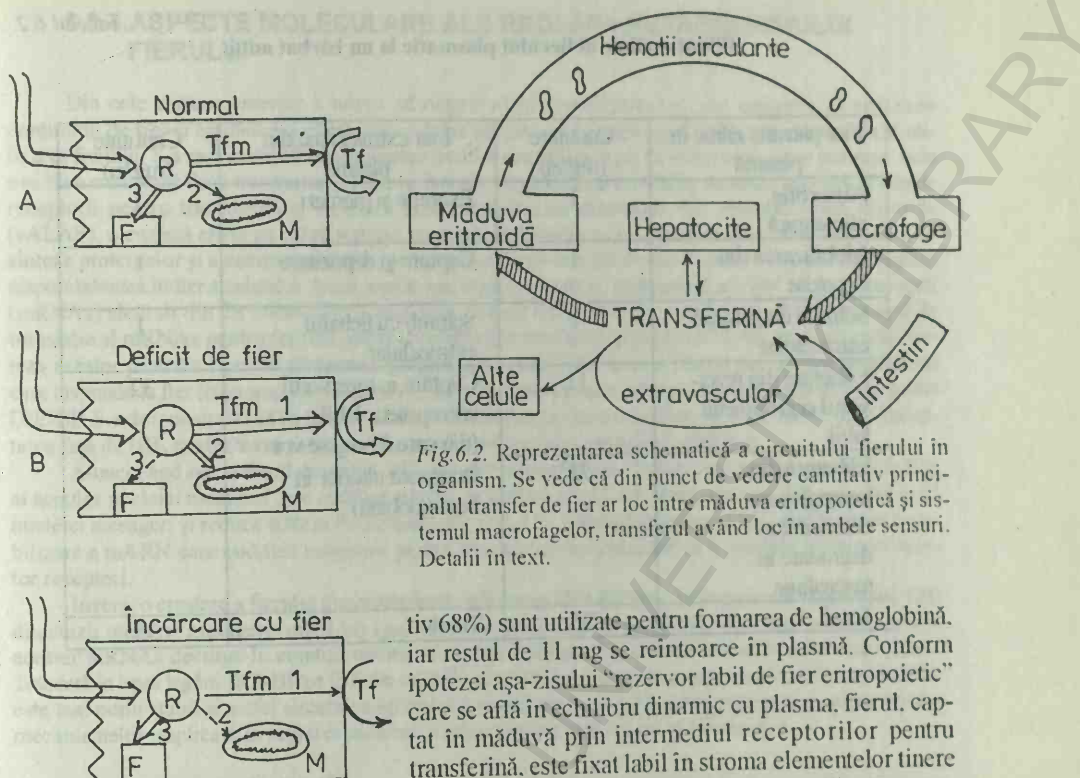


Fig.6.1. Reglarea absorbţiei fierului la nivelul celulelor mucoasei intestinale. Rolul jucat de feritină (F) şi de transferina mucoasei (Tfm).

A. în mod normal fierul ajuns prin difuziune într-un rezervor (R) al celulei intestinale se repartizează pe trei direcţii: 1 - prin intermediul Tfm se transferă spre plasmă unde este preluat de transferina plasmatică (Tf); 2 - o parte din fierul absorbit este utilizată pentru refacerea hemoproteinelor mitocondriale cu turnover accelerat; 3 - o altă parte este stocată sub formă de feritină.

B. În carenţa de fier creşte transferul pe calea 1 şi 2 în timp ce fixarea sub formă de feritină (calea 3) este practic suprimată. De notat şi creşterea transferinei din plasmă.

Fig.6.2. Reprezentarea schematică a circuitului fierului în organism. Se vede că din punct de vedere cantitativ principalul transfer de fier ar loc între măduva eritropoietică şi sistemul macrofagelor, transferul având loc în ambele sensuri. Detalii în text.

tiv 68%) sunt utilizate pentru formarea de hemoglobină, iar restul de 11 mg se reîntoarce în plasmă. Conform ipotezei aşa-zisului "rezervor labil de fier eritropoietic" care se află în echilibru dinamic cu plasma, fierul, captat în măduvă prin intermediul receptorilor pentru transferină, este fixat labil în stroma elementelor tinere ale seriei eritrocitare, iar fracţiunea neutilizată pentru o sinteză promptă de hemoglobină se încorporează în feritină. Această feritină din stroma elementelor tinere ale seriei eritrocitare poate fi cedată macrofagelor din măduvă, iar din acestea se reîntoarce în plasmă fixându-se pe transferină. La rândul său fierul încorporat în hemoglobină se reîntoarce în sânge atunci când hematiile sunt lansate în circulaţie. Intervalul de timp între captarea fierului radioactiv din plasmă şi reîntoarcerea radioactivităţii: în sângele circulant sub formă de hemoglobină inclusă în hematii se numeşte timp de hemoglobinizare efectivă şi este de 24-43 ore (16). În urma degradării în macrofage a hematiilor îmbătrânite, fierul eliberat din hemoglobină este la început stocat sub formă de feritină fiind apoi eliberat în plasmă şi fixat pe transferină, urmând a se relua ciclul descris mai sus (vezi fig. 6.2). O ilustrare numerică a bilanţului fierului plasmatic este prezentată în tabelul 6.2.

Tabelul 6.2.

Bilanţul zilnic al fierului plasmatic la un bărbat adult

Fier pătruns zilnic în plasmă	Cantitate (mg/zi)	Fier extras zilnic din plasmă	Cantitate (mg/zi)
Absorbţia alimentară	1	Excreţie şi pierderi	1
Mobilizarea din depozite	1	Captare şi depozitare	1
Schimb cu lichidul extracelular	1	Schimb cu lichidul extracelular	1
Eliberare din rezervorul eritropoietic labil	11	Captare în rezervorul eritropoietic labil (din care 21 mg se vor încorpora ulterior în hemoglobină)	32
Eliberare din hemoglobina eritrocitelor degradate în macrofage	21		
Total	35	Total	35

6.2.3. ELIMINĂRILE DE FIER

Aşa cum s-a arătat mai sus, cele 21 mg fier eliberat zilnic prin distrugerea hematiilor, se reîntorc în plasmă, se fixează pe transferină fiind apoi preluate din nou în măduva osoasă. Ca urmare, în lipsa unor hemoragii, circuitul fierului decurge practic într-un sistem închis. De fapt, la bărbatul adult, eliminările de fier prin urină sunt minime (sub 0,1 mg/24 ore) şi devin mai însemnate doar în caz de proteinurie masivă. Descuamarea tegumentelor duce la pierderea de 0,2 mg zilnic, iar prin descuamările mucoasei intestinale şi prin excreţia biliară se mai elimină alte 0,2 mg/24 ore. Restul de 0,5 mg fier se pierd cu prilejul hemoragiilor minime de aproximativ 1 ml zilnic, survenite la nivelul mucoaselor digestive, chiar şi în condiţii fiziologice. Este evident că în cazul unor hemoragii mai abundente, pierderile de fier vor fi proporţional crescute, iar economia nu se mai desfăşoară într-un circuit închis. Astfel în cazul femeilor care prezintă cicluri menstruale, se mai pierd lunar încă aproximativ 25 mg fier cu cei 50 ml sânge menstrual. În cazul unor pierderi de sânge rezervele de fier furnizează o sursă rapid accesibilă de fier, pe când absorbţia intestinală poate asigura cel mult 4 mg fier/24 ore (2,8,9,16).

6.2.4.ASPECTE MOLECULARE ALE REGLĂRII METABOLISMULUI FIERULUI

Din cele expuse anterior a reieşit că organismul posedă mecanisme capabile să sesizeze conţinutul de fier al celulelor şi că îşi poate adapta mecanismele implicate în absorbţia, stocarea şi utilizarea fierului. S-a mai arătat că metabolismul fierului este strâns legat de intervenţia unor proteine, cele mai bine cunoscute fiind transferina şi feritina. Recent s-a elucidat şi rolul altor structuri proteice şi anume receptorii pentru transferină şi sintetaza acidului deltaaminolevulinic din celulele seriei eritroide (eALAS), o enzimă cheie pe calea sintezei componentei porfirinice a hemului. S-a mai demonstrat că sinteza proteinelor şi a enzimei amintite mai sus se află sub controlul unui "sensor" capabil să sesizeze disponibilitatea în fier a celulelor. Acest sensor este reprezentat de un fragment al acizilor nucleici mesageri (mRNAs) alcătuit din 28 nucleotide şi care prin fixarea unei proteine specifice modifică procesul de translaţie al mRNAs pentru feritină, pentru receptorii la trasferină şi pentru eALAS, reglând astfel sinteza acestor proteine la nivel ribosomal. Fragmentul nucleotidic amintit poartă denumirea de element care răspunde la fier (iron responsive element, IRE), iar proteina care îl leagă (binding protein) este notată IRE-BP. S-a demonstratat că în funcţie de disponibilitatea în fier a celulelor, IRE-BP îşi modifică afinitatea faţă de IRE şi afectează astfel translaţia acizilor nucleici mesageri (mRNAs).

Atunci când scade fierul din celule IRE-BP îşi creşte afinitatea faţă de fragmentul nucleotidic IRE al acizilor nucleici mesageri care codifică sinteza de feritină şi eALAS, limitează translaţia acestor acizi nucleici mesageri şi reduce sinteza de feritină şi de eALAS. Totodată complexul IRE-BP produce o stabilizare a mARN care codifică receptorii pentru transferină ducând astfel la o creştere a sintezei acestor receptori.

Invers, o creştere a fierului din celule scade afinitatea IRE-BP faţă de fragmentul nucleotidic IRE din acizii nucleici mesageri (mRNAs) specifici care codifică feritina şi eALAS, astfel încât translaţia acestor mRNAs decurge în condiţii optime iar sinteza proteinei şi enzimei amintite este amplificată. Totodată în lipsa legării IRE-BP pe IRE din mRNA care codifică receptorii pentru transferină, acest mRNA este mai puţin stabil şi astfel sinteza receptorilor amintiţi scade (4,6,11). O reprezentare schematică a mecanismelor implicate în reglarea metabolismului fierului este redată în tabelul 6.3.

6.3. NECESITĂŢILE DE FIER ALE ORGANISMULUI

Pe baza datelor obţinute referitoare la procesul de absorbţie, transport, stocare, utilizare şi eliminare a fierului s-a putut stabili atât balanţa fierului plasmatic (vezi tab.6.2) cât şi necesităţile de fier ale organismului în diverse condiţii fiziologice (vezi tab.6.4). Se poate vedea că nevoile de fier ale unui bărbat adult de 70 kg nu depăşesc 1 mg/zi ceea ce corespunde pierderilor zilnice de fier. Nevoile de fier sporesc în perioada de creştere şi în special în cursul pubertăţii. Pierderile de sânge menstruale (35-70 ml/lună) implică un surplus în aportul de fier, iar, în cazul fetiţelor care continuă să crească şi după instalarea menstruaţiei necesităţile sunt aproape de 3 ori mai mari decât cele ale bărbatului adult sau ale femeii trecute de menopauză. Amenoreea din cursul sarcinii ar duce în principiu la economisirea unei cantităţi de aproximativ 200 mg fier. Nevoile de fier ale gravidei sunt însă mult crescute în special în ultimele luni de sarcină. De fapt formarea masei corporale şi a masei sanguine a fătului necesită aproximativ 400 mg fier iar mărirea uterului implică un surplus de alte 500 mg fier. Ţinând cont şi de eventualele pierderi de sânge care survin în cursul parturiţiei se evaluează că nevoile de fier din ultimul trimestru de graviditate ajung la aproape de 4 ori nevoile bărbatului adult. Luându-se în considerare că absorbţia fierului alimentar este parţială (cel mult 40% în cazul unui subiect carenţat) se recomandă ca aportul de fier să fie de câteva ori mai ridicat decât necesităţile calculate în funcţie de pierderi şi arătate în tabelul 6.4. Astfel, în timp ce pentru bărbatul adult şi pentru femeia trecută de menopauză sunt suficiente 10 mg fier alimentar în raţia zilnică, în cazul băieţilor în creştere şi mai ales a fetelor între 12-18 ani pre-

Tabel 6.3.

Mecanisme implicate în reglarea metabolismului fierului. Rolul IRE-BP adică al proteinei care poate lega cu afinitate variabilă un segment nucleotidic (IRE) din structura acizilor ribonucleici mesageri (mRNAs) modifcând translaţia sau stabilitatea acestora şi implicit sinteza receptorilor pentru transferină, a feritinei şi a sintetazei acidului deltaaminolevulinic (e-ALAS) din elementele eritroide. După date din literatură (4,9,11)

Fier accesibil celulelor	Afinitatea IRE-BP faţă de IRE din mARN	Sinteza de receptori pentru transferină	Sinteza de feritină	Sinteza de e-ALAS	Consecinţe în economia fierului
scăzut	creşte	creşte	scade	scade	Se favorizează captarea de Fe în celulele carenţate. Se limitează fixarea lui sub formă de feritină astfel încât mai mult Fe este utilizabil pentru sinteza de hem. Se limitează sinteza de porfirine care în lipsa de Fe s-ar acumula în celule.
crescut	scade	scade	creşte	creşte	Scade captarea de Fe din plasmă; Fe din celule este stocat sub formă de feritină (netoxic). Se stimulează sinteza de porfirine şi implicit a moleculelor de hem.

Tabel 6.4.

Necesitățile de fier ale organismului în diverse condiții fiziologice

Starea fiziologică	Particularități ale metabolismului fierului	Necesități zilnice de fier (mg)
Bărbat adult sau femeie trecută de menopauză	Elimină zilnic 1 mg fier	1
Adult sănătos donator de sânge (1.5l/an)	Elimină zilnic 1 mg fier; pierde anual 750 mg fier. Pierderile suplimentare de fier raportate la 24 ore: 750:365 = 2.1 mg	3.1
Femeie prezentând cicluri menstruale	Pierde zilnic 1 mg fier; pierde lunar 25 mg fier cu cei 50 ml sânge menstrual; Pierderi suplimentare de fier raportate la 24 ore: 25x12:365 = 0.8 mg	1.8
Gravidă	Elimină zilnic 1 mg de fier și nu pierde fier prin menstruație. Necesită totuși un surplus de aprox. 2.7 mg zilnic	3.7
Femeie care alăptează fără a prezenta cicluri menstruale	Excretă zilnic 1 mg fier; nu pierde fier prin menstruație. Necesită un surplus de 0.8 mg fier pe care-l elimină prin lactație	1.8
Femeie care alăptează și prezintă cicluri menstruale	Elimină zilnic 1 mg fier: pierderi de fier prin sângele menstrual raportate la 24 h:0.8 mg. Necesar suplimentar impus de lactație: 0.8 mg	2.6
Copil de 12 ani	Elimină zilnic 0.2 mg fier: necesită însă un surplus zilnic de 1 mg fier pentru creștere	1.2
Băiat la pubertate	Elimină zilnic aproape 1 mg fier: necesită însă un surplus zilnic de 1 mg fier pentru creșterea și formarea depozitelor de fier	2
Fetiță la pubertate (după apariția ciclurilor menstruale)	Elimină zilnic aproape 1 mg fier: pierderi de fier prin sângele menstrual raportate la 24 h:0.8 mg. Necesități suplimentare impuse de creștere și formarea depozitelor de fier: 1 mg.	2.8

cum şi la femeile între 18-55 ani, raţia zilnică va trebui să conţină 18 mg fier (8,16). Întrucât aceste recomandări dietetice sunt relativ rar respectate există o mare incidenţă a stărilor de carenţă în fier, iar laboratorului clinic îi revine sarcina de a depista cât mai precoce un astfel de deficit.

6.4. METODE DE EXPLORARE A METABOLISMULUI FIERULUI

Alături de metodele clasice bazate pe dozări ale hemoglobinei, ale fierului seric (sideremia) şi ale capacităţii totale de fixare a fierului (CTFFe), s-au elaborat metode imunochimice care permit evaluarea concentraţiilor de feritină serică şi chiar de receptori pentru transferină, iar metodele histochimice pot evidenţia granulaţii de hemosiderină în diverse ţesuturi. O altă cale de explorare, aparţinând medicinei nucleare şi bazate pe utilizarea fierului marcat (^{59}Fe) permite o urmărire dinamică a circuitului fierului în organism şi constituie ferocinetica.

6.4.1. INVESTIGAŢII CARE NU IMPLICĂ UTILIZAREA ISOTOPILOR

Pentru a se putea interpreta eventualele modificări cu caracter patologic este important să fie cunoscute **variaţiile fiziologice** ale sideremiei. Deşi s-au semnalat nivele ale sideremiei de până la 170 µg/dl la subiecţi clinic sănătoşi, valorile fierului seric întâlnite la marea majoritate a bărbaţilor normali, oscilează între 90-140 µg/dl, fiind mai scăzute în medie cu 15 µg/dl, la femei (75-125 µg/dl). Există însă şi autori (2) care admit limite excesiv de largi ale sideremiei la subiecţii clinic sănătoşi, valorile oscilând între 49-160 µg/dl. De notat că metodele utilizând Ferren ca reactiv la autoanalizoare, furnizează valori mai joase decât atunci când se folosesc ortofenantrolina sau batofenantrolina. Nou-născutul cu icter fiziologic prezintă o sideremie uşor crescută, scăzând însă în perioada alimentaţiei lactate şi atingând valorile întâlnite la adult după ce copilul a împlinit 6 ani. Capacitatea totală de fixare a fierului (CTFFe) oscilează la majoritatea adulţilor între 300-360 µg/dl (21) admiţându-se, după alţi autori (2), limite mai largi de variaţii între 260-420 µg/dl. În primele zile de la naştere CTFFe este mai scăzută, dar creşte apoi la sugar la valori superioare celor întâlnite la adult. De notat că procentul de saturare a transferinei este de abia 20-25% la sugar în timp ce la adult saturarea transferinei este de 30-40%.

Gravidele aflate după a 28-a săptămână de sarcină, prezintă a scădere a sideremiei şi o creştere a CTFFe, astfel încât gradul de saturare a transferinei poate scădea sub 20%. În cazul femeilor care folosesc anticoncepţionale orale de natură steroidică se constată o creştere a sideremiei concomitent cu creşterea CTFFe.

Conform Sistemului Internaţional (SI) de exprimare a datelor de laborator, concentraţia fierului seric s-ar exprima sub formă de µmoli/l. Ţinând cont că masa atomului de Fe este de 55,847, sideremia normală ar oscila între 16,12 µmol/l şi 25 µmol/l la bărbaţi şi între 13,43 µmol/l şi 22,4 µmol/l la femei. Factorul de transformare din µg/dl în µmol/l este 0,1791 (µg/dl x 0,1791 = µmol/l).

În stări patologice determinările de fier seric evidenţiază o scădere a sideremiei în carenţa severă de fier şi o creştere a acesteia în cazurile de supraîncărcare cu fier, precum şi în anemiile megaloblastice, în anemiile hemolitice şi în anemiile sideroblastice. Fără a subevalua utilitatea determinărilor de fier seric, trebuie arătat că valoarea acestor determinări este îngrădită de limitele relativ largi ale valorilor normale şi mai ales de oscilaţiile suferite de

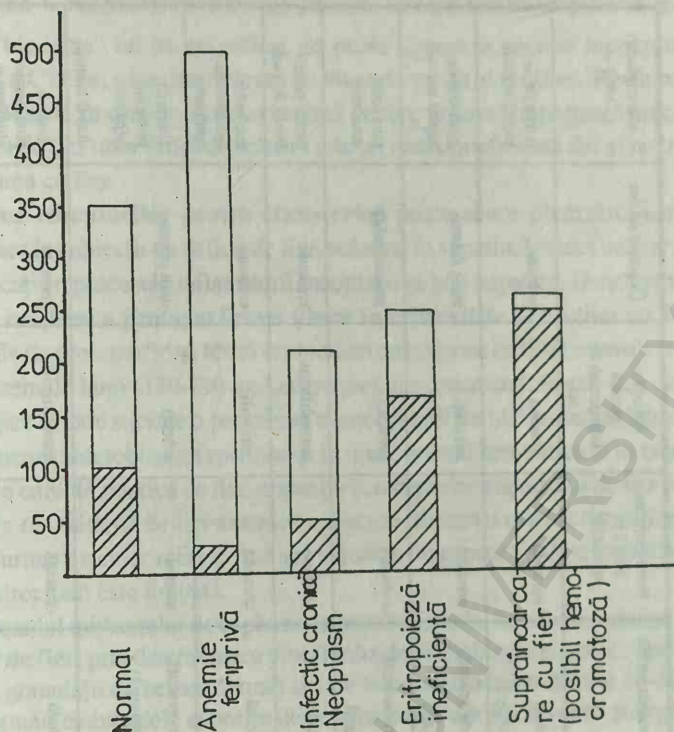


Fig.6.3. Reprezentare schematică a comportării sideremiei (porţiunea haşurată a coloanelor) şi a capacităţii totale de fixare a fierului (coloanele în întregime) în câteva anomalii mai caracteristice ale economiei fierului. Diferenţa între capacitatea totală de fixare (CTFFe) şi sideremie reprezintă capacitatea latentă de fixare (porţiunea albă a coloanelor).
Raportul (sideremie/CTFFe) x 100 - reprezintă gradul de saturare al transferinei.

sideremie care pot da diferenţe de până la 30% între două determinări efectuate la un interval de 8 ore. Mai important este faptul că în stadiile prelatente şi latente ale deficitului de fier, scăderile sideremiei şi creşterile CTFFe nu sunt suficient de exprimate şi deci nu pot depista precoce instalarea unui astfel de deficit.

Spre deosebire de variabilele menţionate mai sus, **dozările de feritină** serică reflectă mai fidel starea depozitelor de fier, nivelul seric al feritinei scăzând sub 20 µg/l încă din stadiul prelatent şi ajungând sub 12 µg/l în stadiul latent al deficitului de fier, înainte de instalarea unei anemii hipocrome.

Supraîncărcarea cu fier poate fi de asemenea mai precis depistată prin dozări de feritină serică, al cărei nivel creşte peste 200 µg/l şi chiar peste 500 µg/l. Supraîncărcarea cu fier se asociază şi cu o creştere marcată a gradului de saturare al transferinei (peste 70% şi chiar peste 90%) datorită creşterii sideremiei şi scăderii CTFFe.

Nivelul seric al feritinei creşte însă şi în caz de necroză a unor celule cu rol de stocare a fierului, ca de exemplu în leziunile toxice ale ficatului. Procesele inflamatorii şi unele neoplazii duc şi ele la o creştere a feritinei alături de creşterea proteinelor de fază acută (fibrinogen,

Tabel 6.5

Investigarea metabolismului fierului prin metode de laborator în diverse stări patologice CTFFe = capacitatea totală de fixare a fierului. Conceput pe baza datelor din literatură (2,21).

Boala	Fier seric	CTFFe	Saturarea transferinei	Feritina serică	Protoporfirina liberă în eritrocite	Receptori pentru transferină în ser	Depozite de fier	Alte explorări utile
Deficit prelatent de fier, fără anemie	Normal	normală	normală	scăzută < 20 μg/l	normală	crescuţi	scăzute	eritrocite de aspect normal
Deficit latent de fier, fără anemie	Normal sau scăzut	crescută	scăzută	foarte scăzută 12 μg/l	crescută	crescuţi	mult scăzute	eritrocite de aspect normal
Deficit menifest de fier, anemie	Mult scăzut	mult crescută	foarte scăzută (< 10%)	foarte scăzută 12 μg/l	crescută	crescuţi	practic golite	microcite anulocite
Anemii din infecţii cronice sau neoplasme	uşor scăzut	uşor scăzută	normală sau scăzută	crescută	crescută	nemodificaţi	crescute	probe pentru boala de bază
Eritropoieză ineficientă (Talasemie, anemie sideroblastică)	normal sau crescut	normală sau scăzută	normală sau crescută	crescută	crescută	variabili	crescute	explorări hematologice complexe
Hemocromatoză primară	mult crescut	scăzută	mult crescută (> 80%)	mult crescută (> 300 μg/l)	normal	scăzuţi	mult crecute	alterarea probelor hepatice diabet bronzat
Intoxicaţie cu plumb	normal	normală	normală sau crescută	normală	crescută	nemodificaţi	normale	dozarea plumbemiei plumburiei

α_1AT, proteina C reactivă). În astfel de situaţii, în care survin modificări de repartiţie a fierului cu "blocarea" lui în macrofage, se poate ajunge la anemie hipocromă, scăderea sideremiei şi a CTFFe, care contrastează cu nivelul crescut al feritinei. Recunoaşterea acestor stări patologice, în care nu există o carenţă de fier, prezintă importanţă practică, întrucât administrarea de fier unor astfel de bolnavi este nu numai ineficientă dar şi nocivă ducând la supraîncărcarea cu fier.

Dozarea receptorilor pentru transferină poate aduce precizări, aceşti receptori crescând în ser la subiecţii cu deficit de fier, scăzând în supraîncărcarea cu fier şi fiind practic nemodificaţi în procesele inflamatorii, neoplazii şi boli hepatice. Există şi studii care au evidenţiat o **creştere a protoporfirinei libere în eritrocitele** subiecţilor cu deficit de fier. Concentraţiile de protoporfirină liberă eritrocitară considerate ca fiind normale, oscilează însă în limite extrem de largi (120-790 μg/l eritrocite), iar concentraţiile sale pot creşte şi în alte stări patologice în care survine o perturbare a încorporării fierului în hemoglobină (intoxicaţii cu plumb, anemii sideroblastice) precum şi în unele anemii hemolitice şi în talasemii în care se ajunge la o carenţă relativă de fier, respectiv la o depăşire a aportului de fier (care este normal) de către necesităţile de fier excesiv crescute ale seriei eritrocitare în puseu de proliferare. Ca urmare a celor relatate mai sus valoarea diagnostică a determinărilor de protoporfirină eritrocitară este limitată.

La arsenalul mijloacelor de explorare a metabolismului fierului se adaugă **investigarea depozitelor de fier**, prin determinarea procentului de sideroblaşti (elemente nucleate din seria roşie având granulaţii de hemosiderină) şi care la normali oscilează între 40-60%. Se pot de asemenea urmări eventualele depozite de hemosiderină din alte ţesuturi şi organe (2,8,16).

Pentru depistarea unei eventuale supraîncărcări cu fier se mai utilizează şi **dozările de fier urinar**, crescute într-o astfel de situaţie, eliminările urinare de fier accentuându-se foarte mult după administrarea unui chelator de fier ca de exemplu deferoxamina (Desferal). Reproducem în tabelul 6.5. şi fig.6.3. comportarea diverselor variabile utilizabile în diagnosticul diverselor anomalii ale metabolismului fierului.

6.4.2. FEROCINETICA

Utilizarea fierului radioactiv permite o apreciere dinamică a economiei fierului (ferocinetica) evaluând viteza de captare a ^{59}Fe din plasmă, identificând organele în care are loc acumularea izotopului injectat, apreciind gradul de încorporare a acestuia în hemoglobină, precum şi durata de viaţă a hematiilor (2,8,16).

Probele de depurare a fierului plasmatic (clearance plasmatic al fierului) se bazează pe injectarea intravenoasă a unei doze de ^{59}Fe (eventual fixat în prealabil pe transferină prin incubarea cu plasmă autoloagă) şi măsurându-se apoi radioactivitatea plasmei din sângele circulant la intervale de 15 minute, timp de 2-3 ore. Aşa cum se vede din figura 6.4 din panta de scădere a radioactivităţii şi respectiv prin determinarea timpului de înjumătăţire (T/2) biologică a fierului radioactiv se poate evalua intensitatea transportului plasmatic al fierului care este în mod normal de 30-37,5 mg/24 ore. Admiţând o con-

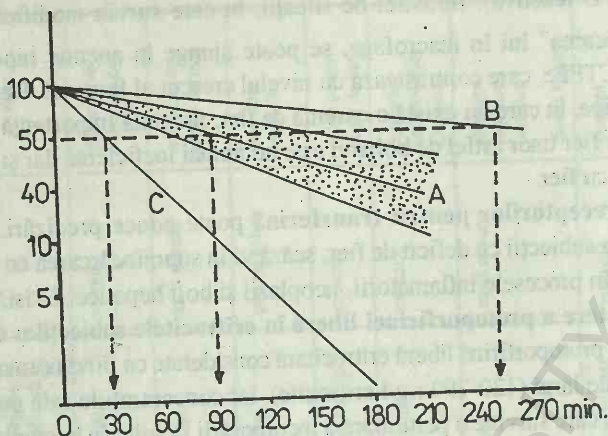


Fig.6.4. Clearance plasmatic al fierului radioactiv (^{59}Fe). Din panta de scădere a radioactivității reprezentată semilogaritmic se poate calcula timpul de înjumătățire în plasmă (T/2) a fierului injectat. Pe abscisă - timpul de la injectarea dozei de ^{59}Fe (în minute); pe ordonată - procentul de ^{59}Fe rămas în plasmă (exprimare logaritmică).
A. Subiect normal. Aria punctată indică limitele normalității (T/2 în medie 90 min);
B. Clearance încetinit (T/2 = 255 min) aspect întâlnit în anemii aplastice şi în hemocromatoză.
C. Clearance accelerat (T/2 = 30 min) denotând o captare rapidă a fierului în măduva osoasă: aspect întâlnit în anemia feriprivă, anemia post hemoragică, anemii hemolitice hiperregenerative dar şi în infecţii cronice, neoplasme, anemii sideroblastice şi megaloblastice.

centrație a fierului plasmatic de 100 μg/dl (1 mg/l) şi un volum plasmatic de 3 litri, rezultă că cele 3 mg de fier conținut în plasmă se reînnoiesc zilnic de cel puţin 10 ori.

Măsurarea radioactivității de suprafaţă (dozări externe) se practică la nivelul măduvei osoase, aplicându-se contorul Geiger-Müller pe sacru. Măsurându-se comparativ radioactivitățile pe sacru şi respectiv pe ariile hepatice şi splenice se pot obţine relaţii asupra organelor la nivelul cărora are loc o acumulare preferențială a fierului radioactiv injectat. Se poate de asemenea evalua viteza cu care este captat cât şi viteza cu care fierul radioactiv părăseşte organul respectiv.

În cazul măsurătorilor efectuate la nivelul osului sacrat, scăderea radioactivității corespunde cu lansarea în circulaţie a hematiilor conţinând fierul radioactiv încorporat în hemoglobină (fig..6.5).

Determinarea încorporării fierului radioactiv în hemoglobină se face în continuarea probei de clearance plasmatic al fierului, recoltându-se zilnic probe de sânge timp de 15 zile şi măsurându-se radioactivitatea în hematii. În funcţie de volumul sanguin şi de hematocrit se poate calcula procentajul de fier radioactiv încorporat în hemoglobina eritrocitelor circulante (fig.6.6).

Aşa cum se vede din tabelul 6.6 ferocinetica adaugă informații utile atât pentru diagnostic cât mai ales pentru o mai bună înţelegere a mecanismelor patogenetice.

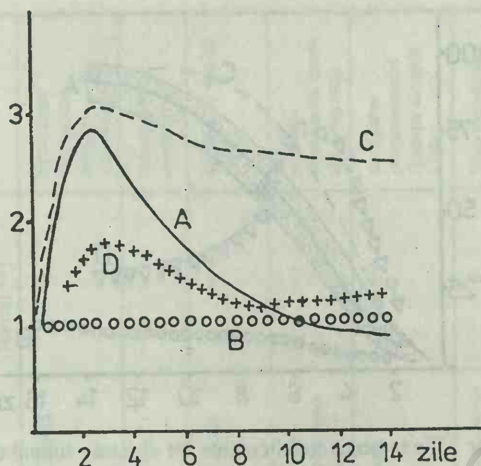


Fig.6.5. Variația radioactivității de suprafață la nivelul sacrului (măsurare externă). Pe abscisă - timpul (t) în zile de la injectarea intravenoasă de ^{59}Fe; pe ordonată - radioactivitatea acumulată la nivelul măduvei osoase exprimată prin raportul: impulsuri/minut la timpul t/impulsuri pe minut la timpul t0; La timpul t0 (adică imediat după injectarea de ^{59}Fe), radioactivitatea măduvei este dată doar de radioisotopul din sângele circulant, raportul amintit crescând pe măsură ce ^{59}Fe este captat de celulele măduvei osoase şi scăzând atunci când hematiile conţinând radioisotopul înglobat în hemoglobină sunt lansate în circulaţie.
A. Aspect normal. Captare rapidă a radioactivităţii urmată de lansarea în circulaţie a hematiilor conţinând ^{59}Fe încorporat în hemoglobină.
B. Lipsă de captare din cauza aplaziei medulare.
C. Captarea rapidă la nivelul măduvei nu este urmată de o golire a acesteia fie din cauza unui deficit de încorporare a fierului în hemoglobină (anemii sideroblastice), fie din cauza unei perturbări a procesului de maturare şi lansarea în circulaţie a hematiilor (anemii megaloblastice).
D. În hemocromatoză o cantitate mai redusă de ^{59}Fe este captată în măduvă, iar un procent ridicat al radioactivităţii se acumulează la nivelul ficatului.

6.5. ANOMALII ALE METABOLISMULUI FIERULUI

Deşi cauzate de mecanisme complexe, anomaliile care afectează metabolismul fierului pot fi împărţite în două mari categorii: anomalii evoluând cu deficit de fier şi anomalii asociate unei acumulări de fier. Se pot întâlni însă şi situaţii în care rezervele de fier sunt normale sau chiar crescute, dar utilizarea fierului şi respectiv încorporarea lui în hemoglobină sunt deficitare.

Procedeele de laborator utilizate pentru evaluarea anomaliilor în metabolismul fierului au fost prezentate anterior. În cele ce urmează se va insista asupra mecanismelor implicate în producerea deficitelor sau a supraîncărcărilor cu fier, precum şi asupra consecinţelor acestor anomalii asupra stării de sănătate.

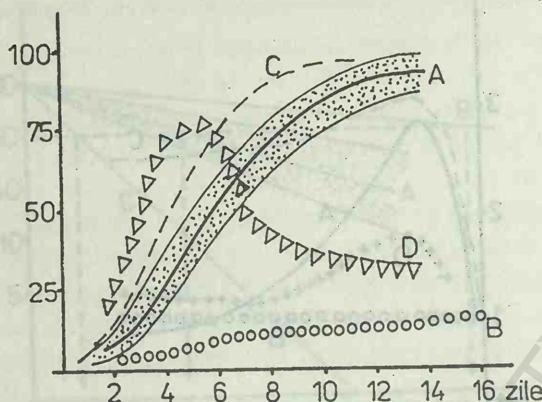


Fig.6.6. Încorporarea de ^{59}Fe în hematiile circulante. Pe abscisă - timpul de la injectarea de ^{59}Fe (în zile). Pe ordonată - radioactivitatea dată de ^{59}Fe încorporată în hematii (procent din doza injectată).
A. Subiect normal. Aria punctată indică limitele normalităţii.
B. Încorporare redusă (anemie aplastică, anemie sideroblastică, anemie megaloblastică).
C. Încorporare accelerată (anemie feriprivă, anemie posthemoragică, anemie megaloblastică tratată cu vitamina B_{12}).
D. Aspect particular în unele anemii hemolitice hiperregenerative. Radioactivitatea apare rapid în hematii, dar scade apoi din cauza hemolizei.

6.5.1. DEFICITUL DE FIER

Scăderea rezervelor de fier survine ori de câte ori aportul sau absorbţia nu fac faţă necesităţilor. Astfel de situaţii apar fie din cauza unei diete inadecvate (regim făinos-lactat) cât mai ales ca urmare a unei absorbţii deficitare (rezecţii întinse de stomac sau de intestin subţire, sindrom de ansă oarbă, diarei cronice, sindrom de malabsorbţie). Deşi multe persoane cu aclorhidrie nu dezvoltă un deficit de fier, lipsa acidului clorhidric constituie un factor predispozant pentru tulburările de absorbţie a fierului. Pierderile cronice de sânge şi sarcinile repetate pot contribui la instalarea carenţelor de fier, mai ales dacă mecanismele compensatorii sunt ineficiente. În cazurile în care nu se depistează o cauză evidentă a deficitului de fier, se poate bănui o dereglare a mecanismelor care controlează economia fierului, respectiv a "senzorilor" sensibili la conţinutul în fier al celulelor.

Anemia feriprivă reprezintă cea mai bine cunoscută consecinţă a deficitului de fier. De precizat însă că această formă de anemie evoluând cu hipocromie, microcitoză şi anulocitoză apare doar în stadiile avansate ale carenţei de fier, atunci când rezervele de fier au fost în mare măsură epuizate. Starea asiderotică, evoluând o perioada de timp fără anemie, constituie stadiul prelatent şi respectiv latent al deficitului de fier şi se explică prin aceea că fierul din organism este utilizat cu precădere pentru formarea de hemoproteine şi în special de hemoglobină ca urmare a creşterii receptorilor pentru transferină la nivelul elementelor tinere ale seriei eritrocitare. În consecinţă, producţia de hemoglobină se menţine o bună perioadă de timp pe seama spolierii rezervelor de fier.

Există indicii că în carenţa latentă de fier se ajunge la scăderea unor enzime celulare conţinând fier. Aşa de exemplu, scăderea activităţii alfa-glicerofosfat oxidazei mitocondriale favorizează acumularea de acid lactic în musculatură şi poate explica fatigabilitatea excesivă

Tabel 6.6.

Comportarea probelor de laborator relativ simple şi a ferocineticii în câteva anomalii ale metabolismului fierului. CTFFe = capacitatea totală de fixare a fierului

Starea patologică	Sideremie	CTFFe	Clearance plasmatic al ^{59}Fe injectat i.v.	Captarea de ^{59}Fe în măduva osoasă (măsurători externe)	ncorporarea de ^{59}Fe în hematiile circulante	Granulaţii de hemosiderină în măduva osoasă (Normal ++)	Alte probe de laborator
Anemie feriprivă	mult scăzută	mult crescută	mult accelerat (T/2 scurtat)	captare rapidă urmată de o scădere progresivă a radioactivităţii	intensă şi rapidă	0	hipocromie; microcitoză; adeseori anaciditate
Anemie post-hemoragică	moderat scăzută	normală sau crescută	accelerat (T/2 scurtat)	captare şi golire rapidă	foarte intensă	+	reticulocitoză exprimată
Anemii din infecţii cronice sau neoplazii	normală sau scăzută	moderat scăzută	accelerat (T/2 scurtat)	captare normală, golire (lansare) întârziată	moderat scăzută	+++	explorarea bolii de bază
Anemii aplastice	mai descrescută	uşor scăzută	întârziat (T/2 prelungit)	captare redusă	foarte redusă (uneori chiar lipsă de incorporare)	+++	scăderea elementelor tinere ale seriei roşii
Eritropoieză ineficientă	normală sau crescută	normală sau scăzută	accelerat (T/2 scurtat)	captare rapidă: golire (lansare) mult întârziată	mult redusă	++++	precizarea etiopatogenezei (puncţia sternală, LDH)
Deficit de transferină	foarte mult scăzută	extrem de scăzută	extrem de accelerat (T/2 aprox. 5 min.)	deficit de captare	mult redusă practic nulă	0	lipsa transferinei prin tehnici imunologice
Hemocromatoză primară	mult crescută	scăzută (saturarea transferinei > 80%)	întârziat (T/2 prelungit)	uşor redusă	uşor redusă	++++	probe hepatice, glicemie; dozări hormonale.

a femeilor cu deficit de fier. S-a constatat la astfel de persoane şi o scădere a activităţii monoaminooxidazei (MAO) cea ce explică reducerea catabolizării catecolaminelor, iar acumularea acestora este incriminată în iritabilitatea şi anomaliile de comportament asociate deficitului de fier.

Persoanele cu deficit de fier expuse la frig nu răspund printr-o creştere adecvată a secreţiei de hormoni tiroidieni (triodotironină) şi implicit prezintă o perturbare a termogenezei ceea ce ar putea explica senzaţia permanentă de frig (frilozitate) pe care o acuză astfel de femei. S-a mai arătat că femeile cu deficit de fier dau naştere unor copii hipotrofici, iar în caz de expunere la diverse metale (plumb, cadmiu, stronţiu) au tendinţa de a le absorbi în cantităţi crescute, prezentând deci risc sporit pentru intoxicaţie.

Remarcabil este faptul că manifestările amintite şi anume fatigabilitatea excesivă, frilozitatea şi anomaliile de comportament nu se întâlnesc în alte forme de anemii (chiar la valori ale hemoglobinei sub 10 g/dl) pe când în deficitul de fier aceste manifestări apar chiar şi în formele latente fără anemie.

Când deficitul de fier se prelungeşte şi se accentuează se instalează anemia microcitară şi se dezvoltă leziuni atrofice ale mucoasei digestive. Atrofia mucoasei linguale, faringiene şi esofagiene se traduce prin arsuri şi jenă la deglutiţie realizând "disfagia sideropenică" (sau sindromul Plummer-Vinson) iar afectarea mucoasei gastrice duce la aclorhidrie, care cedează după tratamentul cu fier. Din cele relatate mai sus reiese importanţa decelării deficitului de fier într-un stadiu cât mai precoce. Aşa cum s-a arătat în tabelul 6.5, prima modificare decelabilă prin teste de laborator este scăderea feritinei serice, iar pe măsură ce deficitul de fier se accentuează, se dezvoltă scăderea sideremiei, creşterea CTFFe şi scăderea gradului de saturare a transferinei, apărând ulterior şi anemia microcitară (2,8,9,21).

Deficitul de fier este unica situaţie în care este indicată terapia cu fier, iar la ora actuală există o serie de preparate cu biodisponibilitate ameliorată. Administrarea parenterală este indicată doar atunci când există fenomene certe de malabsorbţie. De subliniat că terapia cu fier este contraindicată în alte forme de anemii în care rezervele de fier sunt crescute.

6.5.2. DEFICITUL DE TRANSFERINĂ

Aşa cum s-a arătat anterior transferina şi respectiv CTFFe sunt moderat scăzute în supraîncărcarea cu fier, precum şi în infecţii cronice, poliartrită reumatoidă şi procese neoplazice (vezi tabel 6.5). Întrucât transferina este sintetizată în ficat, nivelul acesteia va scădea în insuficienţa hepatică severă, iar pierderile urinare de transferină explică scăderea CTFFe la bolnavii cu sindrom nefrotic.

Cazurile în care survine o scădere dramatică a transferinei se întâlnesc mai rar, dar studiul unor astfel de cazuri a contribuit la descifrarea rolului jucat de această beta-globulină în economia fierului. Un astfel de caz a fost descris de I.Baciu şi colab. în 1960 (1). Subiectul, un bărbat în vârstă de 21 ani, suferind de psoriazis eritrodermic şi artropatic, prezenta o anemie hipocromă severă, atrofie exprimată a musculaturii şi caşexie (36 kg) precum şi o disfagie accentuată (sindrom Plummer-Vinson). Electroforeza proteinelor serice a evidenţiat o disproteinemie complexă cu creşterea fracţiunii α_2 şi γ, în timp ce fracţiunea β era extrem de scăzută. Deşi în plin tratament cu fier (dealtfel ineficient), sideremia era de abia 31 µg/dl iar la imunoelectroforeză, linia de precipitare corespunzând transferinei era la limita decelării. Cazul a fost interpretat ca fiind o perturbare severă a metabolismului fierului cauzată de un deficit de transferină, probabil survenit în cadrul disproteinemiei asociate bolii de bază. În consecinţă, pe lângă terapia cu cortizon s-a încercat şi un tratament substitutiv cu plasmă proaspătă normală, ca sursă de transferină, saturată "in vitro" cu fier. Ameliorarea a fost spectaculară, astfel încât paralel cu creşterea hemoglobinei, jena la deglutiţie cedează, iar bolnavul, care înainte era caşectic şi incapabil de mişcări active, câştigă în greutate şi forţă fizică şi părăseşte spitalul. Examinările ulterioare efectuate la părinţii şi fraţii bolnavului nu au evidenţiat anomalii ale proteinelor plasmatice sau ale sideremiei.

Această observaţie clinică şi de laborator a sugerat, în urmă cu 36 de ani, că transferina intervine nu numai în favorizarea sintezei hemoglobinei dar şi în procesele de captare şi încorporare a fierului în mioglobină şi în heminele celulare.

S-a demonstrat şi existenţa unui deficit genetic de transferină. De fapt, în cazul fetiţei descrise de Heilmeyer (10), sideremia oscila între 9-14 µg/dl iar CTFFe era de abia 33 µg/dl, fierul adăugat plasmei fixându-se probabil, într-o măsură limitată, pe alte proteine plasmatice, iar transferina fiind nedecelabilă. Fetiţa în vârstă de 7 ani prezenta o anemie hipocromă severă, rezistentă la terapia cu fier, vitamina B_{12} şi corticoizi si era menţinută în viaţă prin transfuzii repetate. Ferocinetica evidenţia un clearance extrem de accelerat (T/2 de 5 minute) deoarece fierul radioactiv injectat, nefixându-se pe transferină, difuza rapid în ţesuturi, pierzându-se totodată prin filtrul renal. Caracterul familial mai probabil autosomal recesiv, era atestat de faptul că la ambii părinţi nivelul transferinei serice era de aproximativ jumătate din valorile normale (10).

6.5.3. SUPRAÎNCĂRCAREA CU FIER

Deşi relativ mai rar întâlnită decât deficitul de fier, supraîncărcarea cu acest metal nu este lipsită de importanţă, iar în anumite condiţii implică riscul dezvoltării unor leziuni cu consecinţe nefaste. Atât timp cât acumulările de fier se limitează la sistemul macrofagelor, excesul de fier nu duce implicit la leziuni ale celulelor, fenomenul fiind relativ nenociv. O astfel de stare denumită **hemosideroză** se poate întâlni la politransfuzaţi şi în infecţii cronice. Dacă, însă, excesul de fier se depune şi în organele parenchimatoase (hepatocite, pancreas, glande endocrine) se produce o lezare peroxidativă a proteinelor dim membrana celulelor, ajungându-se în cele din urmă la sclerozarea organelor supraîncărcate cu fier. Această stare patologică denumită **hemocromatoză** poate surveni fie ca o boală de sine stătătoare cauzată de o absorbţie necontrolată şi excesivă a fierului şi condiţionată genetic, fie ca urmare a altor îmbolnăviri care duc în mod secundar la acumulări excesive de fier care ajung să se depună nu doar în macrofage dar şi în organele parenchimatoase.

Hemocromatoza primară (ereditară, idiopatică) se caracterizează printr-o creştere progresivă a cantităţii de fier din organism, fierul depunându-se în ficat, miocard, pancreas, glande salivare, piele şi glandele endocrine. Ca urmare, se dezvoltă o ciroză hepatică, o insuficienţă pluriglandulară, diabet zaharat şi o pigmentare brună-cenuşie a tegumentelor (diabet bronzat). Pigmentarea pielii se datorează în primul rând acumulării de melanină cauzată de insuficienţa suprarenală, iar depunerile de fier contribuie la imprimarea unei nuanţe cenuşii metalice a pielii. Acumularea de fier în miocard duce la insuficienţă cardiacă, neinfluenţată de cardiotonice şi care constituie cauza decesului în aproximativ o treime a cazurilor de hemocromatoză. Toate aceste manifestări apar de regulă după vârsta de 40 de ani, fenomen explicabil prin intervalul de timp îndelungat necesar pentru acumularea progresivă de fier. Admiţând o absorbţie de fier care depăşeşte nevoile eritropoiezei şi care realizează un bilanţ pozitiv al fierului de 2 mg/24 ore (absorbţie de 3 mg în loc de 1 mg), acumularea de 20 g de fier (adică de 5 ori normalul de 4 g) ar necesita aproximativ 27 de ani.

Mecanismul intim al creşterii absorbţiei de fier este încă neelucidat, dar se poate sugera că acesta ar putea fi în legătură cu perturbarea sistemului complex de senzori intracelulari pentru fier care asigură reglarea sintezei proteinelor cu rol în metabolismul fierului. S-a putut însă preciza că această anomalie genetică se transmite autosomal recesiv iar manifestările clinice amintite mai sus se dezvoltă doar la homozigoţi. Studii de genetică au demonstrat că gena hemocromatozei este localizată pe cromozomul 6 strâns legată de antigenul de histocompatibilitate (HLA). S-au putut astfel depista şi diferenţia homozigoţii şi heterozigoţii purtători ai genei hemocromatozei şi în mod surprinzător s-a găsit că incidenţa homozigoţilor ar fi de 1 la 1000 persoane în USA. Manifestările clinice apar doar la 1 din 5000 de persoane,

probabil şi datorită faptului că femeile pierd în cursul vieţii lor 16-30 g fier, ca rezultat al ciclurilor menstruale şi al sarcinilor. De fapt, incidenţa hemocromatozei este de 10-20 ori mai redusă la femei decât la bărbaţi, iar la cele câteva cazuri de femei cu manifestări clinice de hemocromatoză s-au semnalat antecedente de amenoree sau oligohipomenoree. Pe de altă parte, consumul de alcool accelerează încărcarea cu fier a homozigoţilor afectaţi de hemocromatoză.

Este deci evident că, pentru a se preveni pe cât posibil instalarea leziunilor parenchimatoase ireversibile, ar fi necesară o depistare cât mai precoce a anomaliei genetice prin determinarea tipului HLA, iar atunci când acest procedeu nu este accesibil să se efectueze explorări minuţioase ale economiei fierului. Asa cum s-a arătat în tabelul 6.5, hemocromatoza se asociază destul de timpuriu cu creşterea sideremiei, scăderea transferinei şi creşterea gradului de saturaţie cu fier al acesteia (adeseori peste 80% saturaţie), iar la biopsia hepatică sau cutanată se constată mari cantităţi de hemosiderină care dau reacţia albastru de Prusia. De o mare utilitate s-a dovedit dozarea feritinei serice care în astfel de cazuri depăşeşte 250 µg/l şi poate ajunge la 700-800 µg/l. Totodată, urmărirea eliminărilor urinare de fier după injecţii cu Desferal, un chelator al fierului, evidenţiază cantităţi de peste 5 mg fier în urina de 24 ore, în cazul subiecţilor afectaţi de hemocromatoză, pe când în cazul unei hemosideroze fierul urinar eliminat după Desferal nu depăşeşte 3 mg/24 ore. Nu trebuie uitat că în toate cazurile de supraîncărcare cu fier se vor explora funcţiile hepatice, glicemia şi starea glandelor endocrine.

Hemocromatozele secundare s-au descris mai ales în cazul unor anemii evoluând cu anomalii în utilizarea fierului. Aşa este cazul cu subiecţii homozigoţi pentru talasemie şi la bolnavii cu anemii sideroblastice, când fierul nu este încorporat în hemoglobină. Stimularea eritropoiezei prin hipoxie şi prin produşii de degradare a hematiilor duce la creşterea absorbţiei de fier şi la creşterea eliberării de fier din macrofage. Dată fiind eritropoieza ineficientă, fierul neîncorporat în hemoglobină se depune atât înapoi în macrofage cât şi în organele parenchimatoase. În cazurile cu talasemie majoră, încărcarea cu fier survine cu mare rapiditate astfel încât fenomenele clinice (ciroză hepatică, insuficienţă cardiacă) apar încă din adolescenţă. O supraîncărcare cu fier s-a descris şi la populaţia Bantu din Africa de Sud care consumă băuturi alcoolice (bere) preparată în vase de fier şi la care s-a decelat o incidenţă crescută a genei hemocromatozei. Se consideră că leziunile hepatice care se dezvoltă la aceşti subiecţi ar fi cauzate nu numai de excesul de fier dar şi de alcoolism şi de carenţa în proteine (2,8,15,16).

Terapia hemocromatozelor trebuie începută cât mai precoce administrându-se chelatori ai fierului ca Deferoxamina B (Desferal). Recent s-au introdus în terapie şi alţi chelatori ca de exemplu 1,2-dimetil-3-hidroxipiridin-4-onă (deferiprone) care s-au dovedit utili şi în terapia malariei.

6.6. METABOLISMUL CUPRULUI

Deşi, întocmai ca şi fierul, cuprul este un microelement necesar organismului, dozările de cupru se practică relativ rar în laboratoarele clinice, aceste dozări fiind utile mai ales pentru diagnosticul bolii Wilson.

6.6.1. DISTRIBUŢIA ŞI FUNCŢIILE CUPRULUI ÎN ORGANISM

Din cele 100-150 mg de cupru conţinute în organismul uman, o bună parte se află în muşchi şi oase, fără ca acestor fracţiuni să li se fi atribuit până în prezent o semnificaţie funcţion-

ală. Raportate însă la gram de țesut uscat, cea mai mare concentrație de cupru (31 μg/g) se găsește în ficat, concentrații descrescânde evidențiindu-se și în creier, miocard, rinichi și hematii.

Semnificativ din punct de vedere funcțional este faptul că o serie de enzime tisulare conțin cupru. Așa sunt citocromoxidaza, monoaminooxidaza, tirozinaza și superoxiddismutaza. Aceasta din urmă exercită un important efect de protejare a țesuturilor față de acțiunea potențial toxică a ionilor superoxizi (O_2^-) pe care îi convertește în oxigen și apă oxigenată.

Activitatea enzimatică de tip oxidazic exercită însă o α_2 globulină plasmatică deosebit de bogată în cupru și denumită ceruloplasmină. De fapt, peste 96% din cele 80-130 μg cupru, conținute în 100 ml plasmă, se găsesc încorporate în ceruloplasmină. Fiecare moleculă de ceruloplasmină având o greutate moleculară de 165.000 conține 8 atomi de cupru. Știind că greutatea atomică a cuprului este de 63,546, se poate calcula că, în cazul unei concentrații medii de 36 mg ceruloplasmină conținute în mod normal în 100 ml plasmă, această a_2 globulină încorporează aproximativ 0,115 mg cupru (115 μg).

De notat că spre deosebire de transferină care este un adevărat transportor de fier, ceruloplasmina nu cedează țesuturilor cupru, exercitând însă efecte oxidazice asupra unor polifenoli și amine, inclusiv asupra catecolaminelor și serotoninei. S-a atribuit ceruloplasminei și o acțiune feroxidazică sub acțiunea căreia fierul bivalent trece în formă trivalentă putând astfel forma un complex cu transferina. Importanța acestui mecanism pentru metabolismul fierului este încă greu de apreciat. De fapt, deficitul sever de cupru se asociază cu o anemie hipocromă care cedează doar la tratamentul combinat cu fier și cupru. Pe de altă parte, scăderea marcată a ceruloplasminei constată în majoritatea cazurilor de boală Wilson nu se asociază cu o evidentă anemie hipocromă.

6.6.2. CIRCUITUL CUPRULUI ÎN ORGANISM

Cele 2,5-5 mg cupru, conținute în rația alimentară zilnică, acoperă pe deplin nevoile adultului care sunt aproximativ 34 μg/kg greutate corporală/24 ore. Sugarul și preșcolarul necesită cantități relativ mai mari, fiind în jur de 50 μg/kg/24 ore. Întrucât laptele de vacă este foarte sărac în cupru, o alimentație bazată exclusiv pe acest aliment ar putea duce la o carență de cupru. În schimb, alimente cum sunt nucile, ficatul și ciocolata sunt deosebit de bogate în cupru (3,17,18).

Studii efectuate cu ajutorul cuprului radioactiv (^{64}Cu) au demonstrat o absorbție rapidă a cuprului ingerat, procesul fiind favorizat de superoxiddismutază și de o proteină de tipul metalotioneină conținând radicali sulfidril. Pe de altă parte, absorbția cuprului este inhibată de prezența în lumenul intestinal și a sărurilor de molibden (18). Ajuns în plasmă, cuprul se fixează labil pe albuminele serice fiind vehiculat la țesuturi, sub acestă formă. După 24 de ore de la administrarea izotopului, aproape toată radioactivitatea plasmei se regăsește însă la nivelul α_2 globulinelor, fiind încorporată ceruloplasmină. Acest comportament al cuprului radioactiv sugerează că cea mai mare parte a atomilor de cupru, fixați inițial pe albuminele serice printr-o legătură labilă, va fi captată în ficat, încorporată în ceruloplasmina sintetizată la acest nivel, cuprul reîntorcându-se în plasmă sub această formă. Așa cum s-a arătat anterior, ceruloplasmina nu este un adevărat transportor de cupru, iar metalul încorporat în această α_2 globulină nu participă la schimburi cu țesuturile, fiind scos din circuitul metabolic, până când complexul este degradat în ficat, iar cuprul eliberat din ceruloplasmină se elimină pe cale biliară. De fapt, peste 96% din cuprul ingerat se elimină pe această cale, iar eliminările urinare reprezintă o fracțiune infimă (sub 1% din cuprul ingerat). De notat că o parte a cupru-

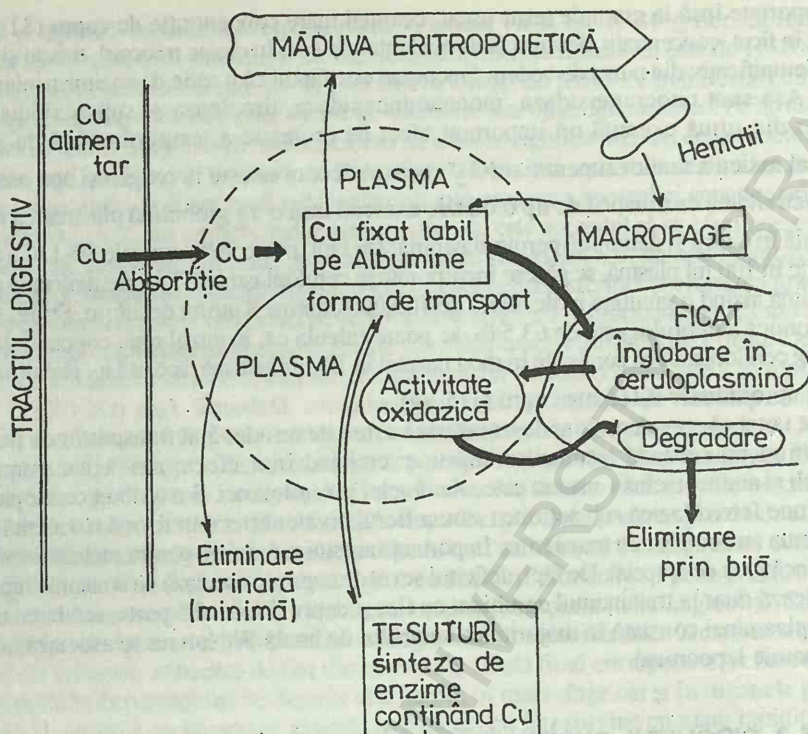


Fig.6.7. Reprezentare schematică a circuitului cuprului în organism. Se poate observa că, spre deosebire de fier, circuitul cuprului nu decurge într-un sistem închis. Din figură reiese că direcţia principală a transportului de cupru este spre ficat pentru încorporare în ceruloplasmină. Aceasta este secretată în plasmă unde îşi exercită activitatea sa oxidazică, fiind apoi captată de ficat şi degradată, cuprul eliminându-se prin bilă. Deşi reprezintă abia 4% din cuprul plasmatic, forma fixată labil pe albumine asigură transportul spre ţesuturi, având un turnover rapid.

lui din sânge se află în eritrocite, mai ales sub formă de superoxiddismutază (18). O reprezentare schematică a circuitului cuprului în organism este reprezentată în fig.6.7.

6.6.3. VARIAŢII FIZIOLOGICE ŞI PATOLOGICE ALE CUPRULUI SERIC ŞI ALE CERULOPLASMINEI

Concentraţia cuprului seric oscilează la adulţii sănătoşi între 90-140 µg/dl. Conform recomandărilor SI, o exprimare mai corectă ar fi cea sub formă de µmoli/l. Ţinând cont că greutatea atomică a cuprului este de 63,546, valorile normale ale cuprului seric s-ar situa deci între 14 şi 22 µmoli/l (µg/dl x 0,1574 = µmoli/l). La noul născut valorile cuprului seric sunt mai scăzute fiind în medie de 65 µg/dl (10,2 µmoli/l), dar aceste valori cresc apoi progresiv, astfel încât la copiii şcolari şi la adolescenţi cuprul seric poate ajunge la 164 µg/dl (26 µmoli/l). Cuprul fixat labil pe albuminele serice (aproximativ 4% din cuprul seric total) constituie din punct de vedere al laboratorului aşa-zisul "cupru direct reactiv" care produce o reacţie promptă cu dietilditiocarbamatul, în timp ce cuprul încorporat în ceruloplasmină nu dă reacţia de

culoare amintită decât după tratarea serului cu acid clorhidric pentru desfacerea complexului metaloproteic. La ora actuală metoda de elecţie pentru determinările de cupru în ser, urină sau ţesuturi este spectrofotometria de absorbţie atomică.

Concentraţia serică a ceruloplasminei (exprimată ca proteină) este de 30-36 mg/dl la adulţi, fiind mult joasă la noul născut (adeseori sub 15 mg/dl) dar crescând în cursul copilăriei şi adolescenţei paralel cu cupremia. Nivelul seric al ceruloplasminei (ca şi cel al transferinei) creşte mult în cursul ultimelor luni de sarcină, putând depăşi 50 mg/dl. Estrogenii şi anticoncepţionalele orale de natură steroidică produc de asemenea creşteri semnificative ale ceruloplasminei şi transferinei serice (17,18).

Creşteri patologice ale cuprului seric şi ale ceruloplasminei se întâlnesc în infecţii acute şi cronice, infarct miocardic, leucemii acute, limfoame maligne şi diverse alte procese neoplazice. În astfel de situaţii ceruloplasmina se comportă ca o proteină de fază acută, creşterea ei corelându-se cu creşterea altor indicatori ai reacţiei de fază acută, cum sunt fibrinogenul, proteina C reactivă şi seromucoizii. De notat că, spre deosebire de ceruloplasmină, nivelul transferinei serice scade în stările menţionate mai sus. O creştere importantă a ceruloplasminei survine şi în perturbarea eliminării pe cale biliară în colestaza intra- şi extrahepatică.

Nivele mai ridicate ale ceruloplasminei se constată şi la mulţi bolnavi cu cord pulmonar cronic, în cazuri de hipertiroidism sever, în cursul crizelor de delirium tremens al alcoolicilor şi în cursul unor crize de epilepsie. Aceste observaţii par a sugera că sinteza de ceruloplasmină ar fi stimulată atât sub acţiunea citokinelor proinflamatorii cât şi ca urmare a unui tonus simpatic patologic crescut.

Scăderi patologice ale cupremiei şi ceruloplasminei s-au descris în unele cazuri de carenţă în cupru (vezi mai jos), în sindromul nefrotic sever, datorită pierderilor urinare, în enteropatia cu pierderi de proteine şi în perturbarea gravă a sintezelor hepatice de proteine, aşa cum se constată în cursul terapiei cu L-asparaginază a leucemiilor limfoide acute (7) sau în unele ciroze hepatice decompensate survenite la tineri. Întrucât, în boli hepatice, nivelul ceruloplasminei este influenţat în sens contrar de factori diferiţi (scăderea nivelului în deprimarea globală a sintezei hepatice de proteine, creşteri în colestază şi procese inflamatorii) valoarea diagnostică a determinărilor de cupru şi ceruloplasmină este mai degrabă redusă la astfel de bolnavi. Determinările de cupru seric şi de ceruloplasmină îşi găsesc însă o certă utilitate în depistarea carenţelor de cupru sau a supraîncărcării cu cupru survenită în boala Wilson.

6.6.4. CARENŢA DE CUPRU

Şobolanii şi porcii tineri supuşi unei diete deficitare în cupru dezvoltă o anemie hipocromă microcitară şi sucombă. Se consideră că fenomenele grave care duc la decese nu sunt o consecinţă directă a anemiei, ci s-ar datora unor perturbări ale sistemelor enzimatice oxidoreductoare dependente de cupru. Sugarii hrăniţi exclusiv cu lapte de vacă, un aliment deosebit de sărac în cupru, pot dezvolta o hipocupremie asociată cu diminuarea absorbţiei de fier, hiposideremie, anemie hipocromă microcitară, hipoproteinemie şi edeme. La astfel de copii activitatea oxidativă a ceruloplasminei scade până la valori nule, dar metodele imunochimice sunt în măsură să detecteze prezenţa în ser a unei proteine cu structura antigenică a ceruloplasminei denumită apoceruloplasmină. Administrând cupru acestor subiecţi carenţaţi se ajunge destul de rapid la refacerea activităţii oxidazice a ceruloplasminei (5,17). Pentru practică este important de ştiut că unele anemii hipocrome ale sugarului hrănit cu lapte de vacă nu cedează la terapia cu fier, dar sunt influenţate favorabil dacă se asociază şi o îmbogăţire cu cupru a alimentaţiei (2,5 mg sulfat de cupru /zi).

Situaţia este mai complicată atunci când deficitul de cupru se datorează unei anomalii cu caracter genetic în procesele de absorbţie şi utilizare a cuprului aşa cum survine în **boala Menkes**. Copiii de sex masculin afectaţi de această boală genetică, transmisă printr-un mecanism recesiv legat de cromozomul X, prezintă încă înainte de luna a treia de viaţă perturbări în dezvoltarea fizică şi intelectuală, crize convulsive şi un păr aspru, fără luciu, ţepos, friabil şi răsucit, care la palpare dă senzaţia de sârmă de oţel (steely-hair sau kinky hair syndrome).

Tendinţa la hipotermie şi marea susceptibilitate la infecţii fac ca decesul să survină de cele mai multe ori înaintea vârstei de trei ani. Laboratorul evidenţiază scăderi ale cuprului seric sub 30 µg/dl (5 µmoli/l) şi activităţi extrem de scăzute ale ceruloplasminei, iar conţinutul în cupru al ficatului acestor copii este de abia 19 µg/g ţesut uscat faţă de 31 µg/g la adultul sănătos şi 250 µg/g la nou-născutul normal (17).

Administrarea pe cale orală a cuprului radioactiv (^{64}Cu) a arătat că acest metal se acumulează în celulele mucoasei intestinale şi doar o mică cantitate trece în sânge. Se pare că defectul de transport al cuprului prin celulele mucoasei intestinale survine şi la nivelul transportului transplacentar, ceea ce explică conţinutul extrem de scăzut de cupru din ţesuturile noului născut cu boala Menkes. Încercările de a evita deficitul de absorbţie prin administrare intravenoasă a unor săruri de cupru nu s-au dovedit eficiente. De fapt, după administrarea intravenoasă de ^{64}Cu, izotopul poate fi detectat iniţial în hematii dar ulterior este captat de ficat şi reţinut, astfel încât nu ajunge să remedieze deficitul de cupru al ţesuturilor.

Se pare că blocarea cuprului în mucoasa intestinală, iar în cazul administrărilor intravenoase, în ficat, se datorează unei proteine de tip metalotioneină cu structură anormală care imobilizează metalul făcându-l inaccesibil ţesuturilor. Ca urmare, se instalează deficite ale sistemelor enzimatice dependente de cupru care sunt responsabile de anomaliile somatice şi neurologice. Rezultatele slabe ale terapiei cu cupru injectabil se explică atât prin lipsa de pătrundere a cuprului în ţesutul nervos, cât şi datorită dezvoltării leziunilor în sistemul nervos încă din viaţa intrauterină (18).

6.6.5. SUPRAÎNCĂRCAREA CU CUPRU. BOALA WILSON

Boala Wilson (degenerescenţa hepatolenticulară) este o boală rară, cu caracter familial, afectând ambele sexe şi cauzată de o perturbare în metabolismul cuprului. Defectul constă în esenţă într-o perturbare a încorporării cuprului în ceruloplasmină. Ca urmare, o mai mare proporţie de cupru se fixează labil pe albumine şi este eliberat oarecum anarhic la nivelul ţesuturilor unde se acumulează. Toate manifestările patologice întâlnite în boala Wilson pot fi explicate prin depunerile anormale de cupru mai sus amintite. Astfel, acumularea de cupru în ficat produce leziuni care pot evolua spre ciroză, la nivelul tubilor uriniferi excesul de cupru interferă cu reabsorbţia acizilor aminaţi, iar în stadii mai avansate perturbă reabsorbţia glucozei, bicarbonaţilor, fosfaţilor şi calciului. Un semn caracteristic este dat de prezenţa unor inele brun-verzui la periferia corneei, consecutive depunerile de cupru în membrana Descemet (inele Kayser-Fleischer). Cele mai tipice şi impresionate manifestări clinice sunt însă cele datorate afectării sistemului nervos cauzate de o acumulare de cupru în nucleii cenuşii de la baza creierului. Simptomele încep mai frecvent la pubertate şi mai rar la vârsta preşcolară şi se caracterizează prin deficit de coordonare a mişcărilor, tulburări de vorbire (disartrie), tulburări de deglutiţie (disfagie) şi mişcări coreiforme.

Investigaţiile de laborator evidenţiază de cele mai multe ori o scădere a cupremiei sub 70 µg/dl (sub 11 µmoli/l) şi o scădere a ceruloplasminei (adesea sub 15 mg/dl). Caracteristică

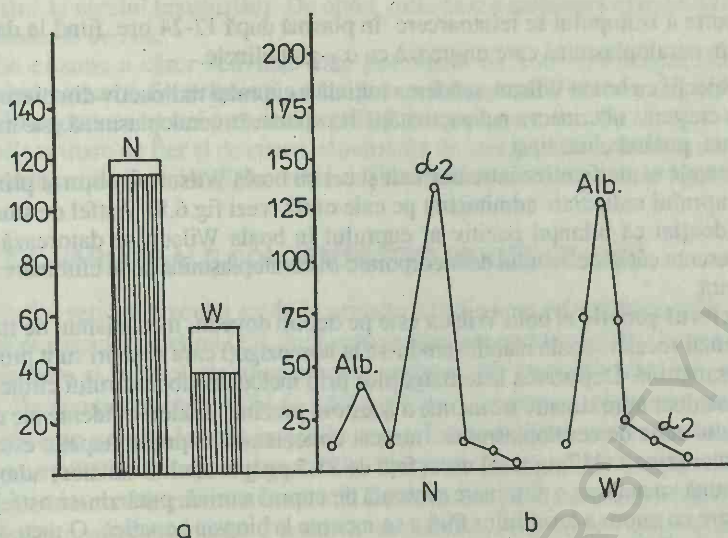


Fig.6.8. Comportarea fracțiunilor cuprului seric la normali (N) și la pacienți cu boala Wilson (W).
a. Rezultatele obținute prin determinarea chimică a cuprului seric. Coloanele reprezintă cupremia în µg/dl. Porțiunea hașurată a coloanelor indică fracțiunea cuprului seric inclusă în ceruloplasmină, iar porțiunea albă constituie o măsură a cuprului legat labil de albumine.
b. Distribuția cuprului radioactiv în fracțiunile electroforetice ale proteinelor serice, la 12 ore de la administrarea orală de ^{64}Cu. După efectuarea electroforezei se măsoară radioactivitatea în fiecare fracțiune electroforetică. Pe ordonată: impulsuri/minut. După Bearn (3).

este creșterea relativă a cuprului neîncorporat în ceruloplasmină (cuprul direct reactiv). Această fracțiune de transport a cuprului fixată labil pe albumine poate ajunge la valori de peste 40% din cuprul total, în boala Wilson, în timp ce la normali este de abia 2-4%. De o deosebită valoare diagnostică este urmărirea eliminărilor urinare de cupru, care la subiecții normali se situează, de regulă, sub 0,1 mg/24 h iar la persoanele afectate de boala Wilson pot depăși 1.5 mg/24 h. Eliminările urinare de cupru cresc și mai mult după administrarea de penicilamină (- β –β dimetil cisteină), un chelator al cuprului. Cupruria provocată cu penicilamină depistează atât formele de debut cât și cazurile rare de boală Wilson (aproximativ 5%) la care componenta colestatică a suferinței hepatice perturbă captarea și degradarea ceruloplasminei și implicit eliminarea pe cale biliară a cuprului, astfel încât nivelele cupremiei și ceruloplasminei serice se află la limita inferioară a valorilor normale sau sunt nemodificate față de normal. În toate cazurile de boală Wilson biopsia hepatică evidențiază o creștere a conținutului de cupru care depășește de 5-30 de ori valorile de 31 µg/g țesut hepatic uscat găsite în medie la adultul sănătos. De remarcat contrastul între scăderea cupremiei constatată la majoritatea cazurilor de boală Wilson și creșterea excesivă a cuprului din țesuturi și mai ales din ficat.

Studii de cinetică a cuprului, efectuate cu isotopi radioactivi ai cuprului, au demonstrat că, în primele minute de la adminstrarea intravenoasă de ^{64}Cu, radioactivitatea este legată de albuminele serice atât la normali cât și la subiecții afectați de boală Wilson. Radioactivitatea plasmei scade apoi rapid, în urma captării cuprului în țesuturi, iar la persoanele normale, cea

mai mare parte a izotopului se reîntoarcere în plasmă după 12-24 ore, fiind la data aceasta încorporat în ceruloplasmină care migrează cu α_2-globulinele.

La subiecţii cu boala Wilson, scăderea iniţială a cuprului radioactiv din plasmă decurge mai lent, iar creşterea ulterioara a radioactivităţii încorporate în ceruloplasmină este mult întârziată şi limitată, putând chiar lipsi.

Diferenţele semnificative între normali şi cei cu boala Wilson se obţin şi prin studii de cinetică a cuprului radioactiv administrat pe cale orală (vezi fig.6.8). Astfel de studii cu izotopi au evidenţiat că bilanţul pozitiv al cuprului în boala Wilson se datorează atât unei absorbţii crescute cât şi deficitului de încorporare în ceruloplasmină şi de eliminare ulterioară pe cale biliară.

Caracterul genetic al bolii Wilson este pe deplin dovedit, mecanismul de transmitere fiind autosomal recesiv, boala manifestându-se la homozigoţi care deseori sunt proveniţi din căsătorii cosanguine. Depistarea heterozigoţilor prin metodele laboratorului clinic este dificilă, deoarece doar aproximativ o cincime a acestora prezintă scăderi evidente ale cupremiei şi ale nivelului seric de ceruloplasmină. Întrucât concentraţia cuprului hepatic este crescută chiar şi la heterozigoţi (117 µg/ţesut uscat faţă de 31,5 µg/g la adultul sănătos) administrarea de penicilamină va antrena o eliminare crescută de cupru în urină, putându-se astfel decela o supraîncărcare cu cupru a ţesuturilor fără a se recurge la biopsia hepatică. O metodă elegantă de depistare a heterozigoţilor se bazează pe deficitul de încorporare a cuprului radioactiv în ceruloplasmină. Astfel, la subiecţii heterozigoţi pentru boala Wilson raportul între radioactivitatea plasmei constatată la 24 ore de la administrarea orală de ^{64}Cu şi radioactivitatea măsurată la 1-2 ore de la ingerarea isotopului radioactiv este de abia jumătate din valoarea raportului obţinut la adulţii normali (3,17). Este de aşteptat ca introducerea pe scară largă a tehnicilor de biologie moleculară să amelioreze în mare măsură posibilităţile de depistare a acestei boli genetice.

Terapia bolii Wilson vizează reducerea supraîncărcării cu cupru, limitându-se ingestia de alimente bogate în cupru şi favorizându-se eliminarea pe cale urinară a cuprului cu ajutorul unor chelatori cum sunt penicilamina şi BAL (British antilewisite, dimercaprol). Întrucât succesul terapiei depinde de precocitatea aplicării ei, se consideră că administrarea tratatmentului chelator ar fi indicată la toţi copiii proveniţi din familiile afectate de boala Wilson, atunci când prezintă o ceruloplasmină serică sub 20 mg/dl, o concetraţie a cuprului hepatic de peste 100 µg/g ţesut uscat, o eliminare anormal crescută de cupru urinar după administrarea de penicilamină sau anomalii decelabile prin tehnici de biologie moleculară.

6.7. METABOLISMUL ZINCULUI

Deşi concentraţia de zinc din organism este de 28 mg/kg masă corporală lipsită de grăsime, fiind de aproximativ 17 ori mai mare decât cea de curpu (1,7 mg/kg masă corporală), datele privind semnificaţia fiziologică a zincului şi implicaţiile patogenice ale variaţiilor conţinutului de zinc sunt încă destul de puţin elucidate. Cea mai mare parte a zincului din organism se găseşte în musculatură, ficat, rinichi şi pancreas, iar concentraţia plasmatică de zinc oscileaza între 72-115 µg:dl (11-17,6 µmoli/l) fiind similară concentraţiei plsmatice a cuprului. Aproximativ 30-40% din zincul seric este legat de α_2-macroglobulină, cam 1% este complexat de cisteină şi histidină, iar restul este fixat labil pe albumine. De notat că hematiile conţin importante cantităţi de zinc (în medie 12,4 mg/l eritrocite sau 190 µmoli/l) şi că scăderea zincului eritrocitar reduce afinitatea hemoglobinei faţă de oxigen favorizându-se astfel eliberarea

oxigenului la nivelul țesuturilor. De altfel, anhidraza carbonică eritrocitară este o enzimă dependentă de zinc.

Alte enzime a căror activitate este potențată de zinc sunt fosfataza alcalină și alcooldehidrogenaza. Se atribuie zincului și un rol important în sinteza acizilor nucleici și implicit în reglarea sintezei proteinelor (18). Este important de știut că, spre deosebire de eliminările urinare de fier și de cupru, eliminările de zinc pe cale urinară sunt relativ importante fiind în medie de 0,5 mg/24 ore dar oscilând în limite largi între 0,145 și 1,25 mg/24 ore.

6.7.1. VARIAȚII ALE CONCENTRAȚIEI SERICE DE ZINC

Nivelul seric al zincului scade în primele zile ale unui infarct miocardic (18) sau după un accident vascular cerebral (20), după intervenții chirurgicale majore, în cursul unor infecții acute, precum și în evoluția unor procese maligne (de exemplu leucemii, carcinom pulmonar). De menționat că în astfel de stări patologice, cupremia crește și se poate presupune că modificările suferite în sens invers de către cele două metale se pot încadra în reacția de fază acută mediată de citokine. Între altele, reacția de fază acută se caracterizează și printr-o comutare a sintezei de proteine la nivelul ficatului în sensul creșterii producției de fibrinogen, α_1-antitripsină și proteină C reactivă, în timp ce colinesteraza serică și albumina (care fixează o parte a zincului seric) au tendința să scadă. De notat că nivelul seric al zincului ca și cel al albuminei și al colinesterazei serice scad în mod evident în cirozele hepatice decompensate (18). S-a putut stabili de altfel o corelație între nivelul seric de zinc, pe de-o parte, și concentrația de albumină serică și activitatea colinesterazei serice, pe de altă parte (20).

6.7.2. DEFICITUL DE ZINC

Deficitul de zinc poate surveni fie printr-un aport insuficient, fie printr-o exagerare a pierderilor urinare. Se pare că ambele mecanisme intervin în cazul alcoolicilor.

Deficitul de zinc datorat doar unui aport insuficient survine doar în mod excepțional, ca de exemplu în cazul unei nutriții parenterale sau a unei diete artificiale, cum ar fi dieta sintetică la copiii cu fenilcetonurie. S-au descris însă cazuri cu carență cronică de zinc în unele țări ca Iranul sau Egiptul. În astfel de cazuri se incriminează un complex de factori cauzali între care concentrația scăzută de zinc din apă, dieta bogată în rezidii vegetale (celuloză, acid fitic), la care se adaugă uneori obiceiul de a ingera lut (geofagie) și care întocmai ca acidul fitic reduc absorbția mineralelor și implicit a zincului. Bolile intestinului subțire evoluând cu malabsorbție pot duce și ele la o carență de zinc. Pe de altă parte, reducerea capitalului de zinc poate surveni și ca urmare a unor pierderi urinare așa cum se constată în sindromul nefrotic, la alcoolici și după un tratament prelungit cu diuretice (12,18,19).

Manifestările clinice ale deficitului de zinc diferă în funcție de gravitatea deficitului și de rapiditatea cu care s-a instalat acest deficit. În cazul unei depleții acute aspectul clinic este caracterizat prin diaree, stări depresive, dermatită eczematoasă perinazală și periorală precum și alopecie, toate aceste manifestări patologice cedând după câteva zile de la începutul unui tratament cu zinc.

Deficitul cronic semnalat la anumite grupuri de populație din Iran, Egipt și Turcia evoluează cu întârzierea în creștere, anemie hipocromă și hipogonadism. La aceste fenomene se adaugă o încetinire a vindecării plăgilor, un anumit grad de deficit al imunității celulare și

dificultăţi în adaptarea vederii la întuneric cauzată de o perturbare a metabolismului vitaminei A (18).

6.7.3. ACRODERMATITA ENTEROPATICĂ

Importanţa zincului pentru economia organismului este ilustrată de existenţa unei anomalii cu caracter genetic caracterizată prin perturbarea severă a absorbţiei zincului şi denumită acrodermatită enteropatică. Această eroare înnăscută de metabolism are un mecanism de transmitere autosomal recesiv şi se exprimă prin diaree, alopecie şi leziuni erozive în jurul orificiilor (nazal, bucal, anal) precum şi cruste localizate pe coate, genunchi şi glezne. Aceste fenomene apar la scurt timp de la înţărcare şi trecerea la o alimentaţie cu lapte de vacă. Ulterior se asociază tulburări de vedere (fotofobie, evitarea viziunii centrale), întârziere în creştere şi aspect general de malnutriţie. Toate aceste manifestări sunt similare celor cauzate de o depleţie câştigată de zinc, iar Moynahan şi Barnes (14) au semnalat nivele extrem de scăzute ale zincului seric (40 μg/dl respectiv 6 μmoli/l).

Administrarea sărurilor de zinc a produs o ameliorare dramatică a situaţiei. Se consideră că subiecţii afectaţi de acrodermatită enteropatică prezintă o anomalie în structura unei proteine secretate de pancreas cu rol de legare a zincului, facilitând astfel absorbţia acestui metal. S-a mai arătat că laptele de mamă, dar nu şi cel de vacă, conţine o proteină care leagă zincul şi care este similară cu cea din pancreasul subiecţilor sănătoşi. Se explică astfel apariţia fenomenelor descrise mai sus, la scurt timp de la oprirea alimentaţiei la sân.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1.Baciu I., Cucuianu M., Prundeanu C., Bociat T. Atransférinémie transitoire chez un jeune homme. Rev.Roum.Med.Int., 1965, 2: 291-297.

2. Bauer J.D. Hemoglobin, porphyrin and iron metabolism. In Kaplan and Pesce (Editors). Clinical Chemistry C.V.Mosby Company St.Louis-Toronto-Princenton, 1984, pp.633-639.

3.Bearn A.G. Wilson's disease in Stanbury, Wyngaarden and Fredrickson (Editors). The metabolic basis of inherited disease ed.III, Blakiston Division, Mc Graw Hill Book Company, New York, 1972.

4.Brittenham G.M New advances in iron metabolism, iron deficiency and iron overload. Current opinion in Hematology, 1994, 1: 101-106.

5. Burch R.E., Hahn H.K., Sullivan J.F.: Newer aspects of the roles of zinc, manganese and copper in human nutrition. Clin.Chem., 1975, 21: 501-507.

6.Cook J.D., Skikne B.S., Baynes B.D. Serum transferrin receptor. Ann.Rev.Med., 1993, 44: 63-74.

7.Cucuianu M., Olinic N., Goia A., Fekete T. Biochimie clinică. Ed. Dacia, Cluj-Napoca, 1979.

8.Finch C.A. and Hueber H. Perspectives in iron metabolism. N.Eng.J.Med., 1982, 306: 1520-1528.

9. Finch C. Regulators of iron balance in humans. Blood 1994, 84: 1697-1702.

10.Heilmeyer L. Altes und Neues von Eisenstoffwechsel, Münch, Med.Wschr., 1965, 17: 805-813.

11.Klausner R.D., Rouault T.A., Harford J.B. Regulating the fate of mRNA. The control of cellular iron metabolism. Cell, 1993, 72: 19-28.

12.McClain C., Soutor C., Zieve L. Zinc deficiency a complication of Crohn's disease. Gastroenterology, 1980, 78, 272-279.

13.Menkes J.H., Alter M., Steingleder G.K., Weakley D.R., Sung G.H. A sex-linked recessive disorder with retardation of growth, peculiar hair and focal and cerebellar degeneration. Pediatrics 1962, 29: 764-774.

14.Moynahan E.J., Barnes P.M. Zinc deficiency and a synthetic diet for lactose intolerance. Lancet 1973, 1: 676-685.

15.Powell L.W. The role of alcoholism in hepatic iron storage. Ann.N.Y.Acad.Sci.1979, 252: 124-134.

16.Pollicove M. Hemochromatosis. In Stanbury, Wyngaarden and Fredrickson (Editors).The metabolic basis of inherited disease Mc Graw-Hill Book Co. New York, 1978.
17. Sass-Kortsak J., Bearn A. *Hereditary disorders of copper metabolism.* In Stanbury, Wyngaarden and Fredrickson (Editors).The metabolic basis of inherited disease Mc Graw-Hill Book Co. New York, 1978.
18.Taylor A. The biochemistry and toxicology of heavy metals. In Williams and Marks (Eds). Biochemistry in clinical practice. Heinemann Medical Books Limited, London, 1983, pp. 347-362.
19.Thomson A.D., Majumdor S.K. The influence of ethanol on intestinal absorbtion and utilization of nutrients. Clin. Gastroenterol., 1981, 10: 263-270.
20.Uza G., Comes L., Uza D., Pop O. Serum Zinc and copper in patients with cerebral vascular disease. Rev.Roum.Med.Int., 1995, 33, 19-26.
21.Wick M., Pinggera W., Lehmann P. Ferritin im Eisenstoffwechsel. Springer Verlag Wien, New York, 1991.

ÎNTREBĂRI DE CONTROL

1. Stabiliţi corespondenţa între noţiunile de mai jos şi definiţia lor:

A. Transferină
B. Apoferitină
C. Ceruloplasmină
d. Hemosiderină

I. alfa$_2$-globulină conţinând cupru, dotată cu activitate oxidazică
II. beta$_1$-globulină cu rol în transportul fierului
III. Proteină cu rol în fixarea şi depozitarea fierului
IV. Feritină supraîncărcată cu fier care dă o corelaţie albastră cu fericianura de potasiu

2. Creşterea concentraţiei intracelulare de fier are drept urmare:
A. Creşterea sintezei de apoferitină
B. Creşterea numărului de receptori pentru transferină
C. Creşterea sintezei de acid deltaaminolevulinic în elementele eritroide
D. Toate acestea
E. Nici una.

3. Femeie de 34 de ani care a născut 3 copii în decurs de 5 ani prezintă:
Hemoglobină 12 g/dl, Sideremie 80 μg/dl; Capacitate totală de fixare a fierului (CTFF) 360 μg/dl; Feritina serică 18 μg/l. Un astfel de buletin cadrează cu:
A. Carenţă latentă de fier
B. Anemia feriprivă
C. Hemocromatoză
D. Inflamaţie cronică

4. Stabiliţi corespondenţa între buletinele de mai jos şi starea cu care cadrează:

A. Sideremie 30 µg/dl; CTFF 440 µg/dl; Feritină serică 12 µg/l	I. Deficit sever de fier
B. Sideremie 250 µg/dl; CTFF 255 µg/dl; Feritină serică 700 µg/l	II. Inflamaţie cronică
C. Sideremie 80 µg/dl; CTFF 380 µg/dl; Feritină serică 17 µg/l	III. Supraîncărcare cu fier
D. Sideremie 50 µg/dl; CTFF 220 µg/dl; Feritină serică 240 µg/l	IV. Carenţă latentă de fier

5. Încetinirea procesului de clearance plasmatic al fierului radioactiv se observă în:
A. Anemia feriprivă
B. Anemia megaloblastică
C. Anemia sideroblastică
D. Anemia aplastică
E. În toate aceste situaţii
F. În nici una

6. Într-un deficit de fier la o femeie de 36 de ani care nu a ajuns încă la anemie hipocromă microcitară pot surveni următoarele manifestări clinice şi riscuri:

A. Stare de iritabilitate şi tahicardie prin creşterea concentraţiei de catecolamine
B. Stare de frilozitate şi lipsa secreţiei de triiodotironină după expunerea la frig
C. Stare de fatigabilitate asociată unei diminuări a activităţii alfa-glicerofosfat oxidazei
D. Riscul de a naşte copii hipotrofici
E. Risc sporit de intoxicaţie în caz de expunere la plumb, cadmiu, stronţiu
F. Toate acestea
G. Nici una.

7. Faptul că hemocromatoza se întâlneşte de 10-20 ori mai frecvent la bărbaţi decât la femeie se explică prin aceea că:
A. Hemocromatoza este o afecţiune genetică care se transmite printr-un mecanism legat de sex (respectiv pe cromozomul X)
B. Femeile pierd în cursul vieţii aproximativ 10-30 g fier prin sângele menstrual
C. Ambele explicaţii sunt valabile
D. Nici una din ele.

8. Afectarea ficatului cu evoluţie spre ciroză, diabetul bronzat şi atrofia testiculară întâlnită la bărbaţii cu hemacromatoză se datorează:

A. Depunerilor de fier sub formă de feritină
B. Prezenţei de atomi de fier liberi care lezează membranele celulare printr-un efect de peroxidare
C. Ambele explicaţii sunt valabile
D. Nici una

9. Creşterea feritinei serice se poate întâlni în:
A. Supraîncărcare cu fier (Hemocromatoză)
B. Proces inflamator cronic
C. Leziune hepatică
D. Toate aceste situaţii
E. Nici una.

10. Stabiliţi corespondenţa între anomaliile unor microelemente şi bolile cu care se asociază:

A. Carenţă severă de cupru condiţionată genetic
B. Carenţă severă de zinc
C. Supraîncărcare cu cupru

I. Boala Wilson
II. Boala Menkes
III. Acrodermită enteropatică

11. Scăderea cupremiei şi a ceruloplasminei serice asociată cu o creştere relativă a cuprului legat labil de albumine (cupru direct reactiv) la valori de aproximativ 40% din cuprul seric total sugerează:

A. Sindromul nefrotic
B. Carenţă de cupru
C. Un proces neoplazic
D. Boala lui Wilson
E. Toate aceste stări patologice
F. Nici una din ele

12. Care din investigaţiile de laborator de mai jos este cel mai constant modificată în boala lui Wilson fiind detectabilă atât în formele de debut cât şi în formele în care suferinţa hepatică are un caracter colestatic:

A. Scăderea cupremiei
B. Scăderea ceruloplasminei
C. Creşterea cupremiei
D. Cuprurie marcată după penicilamină

13. Reacţia de fază acută întânită în cursul unui proces inflamator acut, în cursul unui infarct miocardic, în cursul unei leucemii acute, sau a unui limfom malign se asociază cu:

A. Creşterea nivelelor plasmatice de cupru şi zinc
B. Scăderea simultană a nivelelor plasmatice de cupru şi zinc
C. Creşterea cupremiei şi scăderea concentraţiei plasmatice de zinc
D. Stările patologice menţionate mai sus nu afectează nivelele plasmatice de cupru şi de zinc.

14. Stabiliţi corespondenţa între starea patologică şi terapia indicată:

A. Hemocromatoză
B. Boala lui Wilson
C. Acrodermită enteropatică

I. Sulfat de zinc
II. Penicilamină
III. Desferal

15. Controlul conținutului în fier din organismul unui bărbat adult se realizează mai ales prin reglarea absorbției de fier deoarece eliminările de fier ale bărbatului sunt minime și nereglabile.

16. Deficitul de fier duce la creșterea producției de transferină și de receptori celulari pentru transferină deoarece deficitul de transferină se soldează cu o anemie feriprivă rezistentă la terapia cu fier.

17. În boala Wilson se constată de regulă o scădere a cupremiei și a ceruloplasminei serice deoarece în această anomalie genetică nu se absoarbe cuprul din intestin.

18. În hemocromatoza primară se constată o creștere importantă a colinesterazei serice deoarece depunerea de fier în organele parenchimatoase duce cu timpul la ciroză hepatică decompensată.

19. Ceruloplasmina serică scade evident în cursul reacției de fază acută deoarece citokinele proinflamatorii reduc sinteza hepatică a acestei enzime precum și sinteza de α_1AT.

20. Femeile cu deficit de fier acuză frecvent o senzație de frig (frilozitate) deoarece expunerea lor la rece nu determină o secreție adecvată de hormoni tiroidieni și nu își activează termogeneza.

21. În boala Wilson cuprul se depune în parenchimul hepatic și în nucleii cenușii de la baza creierului deoarece survine o creștere a eliminărilor urinare de cupru care se accentuează după administrarea de penicilină.

Cheia la întrebările 15-21

a. ambele afirmații corecte și legate cauzal
b. ambele afirmații corecte dar nelegate cauzal
c. prima afirmație corectă, a doua incorectă
d. prima afirmație incorectă, a doua corectă
e. ambele afirmații incorecte

7. METABOLISMUL CALCIULUI, FOSFORULUI ŞI MAGNEZIULUI

Cea mai mare parte a calciului (90%) şi a fosforului (85%), precum şi aproximativ jumătate din cantitatea de magneziu din organism se găsesc în oase. Cu toate acestea, respectivele elemente îndeplinesc nu doar un rol structural ci deţin numeroase roluri fiziologice. Astfel, ionii de calciu intervin în modificarea permeabilităţii membranelor celulare şi capilare, scad excitabilitatea neuromusculară şi sunt necesari pentru contracţia miocardului. Ionii de calciu intervin şi în activarea unor sisteme enzimatice, inclusiv cele implicate în coagulare.

Metabolismul calciului se intrică strâns cu cel al fosforului (sub formă de fosfaţi), iar raportul dintre cele două elemente influenţează absorbţia lor intestinală şi depunerea lor în oase sub formă de complexe insolubile. Pe de altă parte, fosfaţii participă la formarea unor sisteme tampon, precum şi la formarea legăturilor fosfatice macroergice (ATP, creatinfosfat).

Magneziul intracelular joacă un important rol catalitic în reacţiile enzimatice implicate în sinteza proteinelor şi eliberarea de energie. Fracţiunea extracelulară a magneziului (aproximativ 1%) intervine împreună cu calciul în modularea excitabilităţii neuromusculare.

Din aceste considerente calciul, fosfaţii şi magneziul vor fi discutaţi în acelaşi capitol.

7.1. DATE REFERITOARE LA FIZIOLOGIA CALCIULUI

7.1.1. REPARTIZAREA CALCIULUI ÎN ORGANISM

Calciul se găseşte în organism în cantităţi mai mari decât oricare alt cation (1100 g calciu comparativ cu 80 g sodiu). Deoarece majoritatea calciului se găseşte sub formă de complexe insolubile, nu este recomandabil ca valorile calciului total să se exprime în mEq/l. Cea mai mare parte a calciului (peste 1000 g) este cantonată în ţesutul osos. Aproximativ 10 g de calciu se găsesc intracelular, iar mai puţin de 1 g se află în sectorul extracelular (plasmă, lichid interstiţial, ţesut conjunctiv). La ora actuală mai bine studiate sunt calciul din ţesutul osos şi calciul plasmatic.

7.1.1.1. CALCIUL DIN OASE

Oasele sunt constituite dintr-o matrice organică (reprezentând aproximativ 30% din greutatea unui os compact) impregnată cu săruri de calciu. Matricea proteică este alcătuită în proporţie de 90-95% din fibre de colagen, restul fiind constituit dintr-o substanţă fundamentală conţinând proteoglicani (în special acid hialuronic şi condroitinsulfat). Matricea organică este

impregnată cu săruri de calciu complexe a căror formă cristalizată ($Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$) este identică cu hidroxiapatita.

Calcificarea oaselor. Stadiul inițial în producerea de către osteoblaste a țesutului osos constă în secreția de colagen, proteoglicani și glicoproteine care alcătuiesc matricea extracelulară a osului. Se ajunge astfel la formarea unui țesut asemănător cartilagiului și numit osteoid. O glicoproteină particulară din matricea extracelulară a osului este osteocalcina, care fiind dotată cu grupări gama-carboxiglutamice (două grupări carboxil legate la același atom de carbon în poziția gama) poate fixa calciul bivalent. De notat că formarea radicalilor gama-carboxilglutamici din osteocalcină depinde de vitamina K, iar tratamentul gravidei cu antagoniști ai vitaminei K (anticoagulante orale) se soldează cu malformații osoase ale fătului.

În câteva zile de la formarea osteoidului, sărurile de calciu precipită la suprafața fibrelor de colagen. Inițial, aceste săruri sunt sub formă amorfă, necristalizată, suferind ulterior procese de restructurare ce conduc la formarea cristalelor de hidroxiapatită în decurs de săptămâni sau luni. Totuși, 20-30% din sărurile de calciu rămân permanent sub formă amorfă, acestea putând fi rapid mobilizate la nevoie spre lichidul extracelular. Țesutul osos este supus unei remanieri permanente, interesând atât matricea proteică cât și sărurile de calciu, care sunt continuu resorbite și regenerate. În aceste procese intervin osteoblastele, celule formatoare de os și osteoclastele, celule cu proprietăți fagocitare și resorbtive. Acestea din urmă produc enzime proteolitice care lizează matricea organică a osului și eliberează săruri minerale.

Întrucât colagenul matricii organice conține doi aminoacizi, hidroxiprolina și hidroxilizina, care nu se găsesc în alte proteine, eliminarea urinară a acestora poate furniza informații despre viteza de catabolizare a proteineelor din țesutul osos (18).

Osteoblastele, celule implicate în osteogeneză, secretă fosfatază alcalină, care hidrolizează fosfații organici (esteri ai acidului fosforic, ca de exemplu fosfoetanolamina din structura cefalinelor). Fosfatul anorganic (Pi) eliberat precipită cu calciul sub formă de fosfați de calciu insolubili. Țesutul osos mai conține și ioni de magneziu, potasiu, carbonat, complexați în cristalele de hidroxiapatită. De asemenea, în oase se pot fixa plumb și unele elemente radioactive (uraniu, radiu, stronțiu).

7.1.1.2. CALCIUL PLASMATIC

Se găsește în cantitate de 10 mg/dl, respectiv 5 mEq/l, sau mai corect 2,5 mmoli/l. Aproximativ jumătate din această cantitate este fixată pe proteine sub formă neionizată și nedifuzibilă, constituind o formă inactivă fiziologic. O cantitate mică de calciu este difuzibilă dar neionizată, fiind reprezentată de citrați și carbonați de calciu. Restul calciului plasmatic (aproximativ 1,9 - 2,5 mEq/l (respectiv 0,95-1,25 mmoli/l) se găsește sub formă ionică și constituie fracțiunea fiziologică activă în procesele de hemostază și de reglare a excitabilității neuromusculare.

La ora actuală calciul ionic poate fi determinat direct, utilizând electrozi selectivi. Pentru laboratoarele care nu dispun de această posibilitate, valoarea calciului ionic poate fi determinată cu aproximație, ținându-se cont de concentrația proteinelor plasmatice, după următoarea formulă:

$$Ca^{++} = \frac{6Ca - \frac{Pr}{3}}{Pr + 6}$$

în care:
Ca = calcemia în mg/dl; Pr = proteinemia în g/dl.

De exemplu: Ca = 10 mg/dl (5 mEq/l), iar Pr = 7g/dl. Calciul ionic va fi:

$$Ca^{++} = \frac{6 \times 10 - \frac{7}{3}}{7+6} = 4,4\,mg/dl \quad sau \quad 2,2\,mEq/l$$

Fracţiunea ionizată a calciului seric tinde să scadă în caz de alcalinizare a sângelui, când capacitatea proteinelor de a fixa calciul creşte (14,17,29).

7.1.2. ECHILIBRUL CALCIULUI ÎN ORGANISM

Cantitatea totală de calciu din organism depinde de echilibrul între aport şi pierderi. Studii cu izotopi au arătat că între compartimentele calciului există un schimb permanent, putând atinge o intensitate de 100-300 mg/oră. Întrucât absorbţia intestinală şi excreţia urinară de calciu sunt mult inferioare acestor cifre, rezultă că homeostazia calciului se realizează în special prin schimburile rapide între calciul din lichidul plasmatic şi cel din compartimentele osoase şi celulare (14).

Aportul de calciu este în funcţie de regimul alimentar şi de capacitatea de absorbţie a intestinului. Alimente bogate în calciu sunt: laptele, brânzeturile, gălbenuşul de ou, nucile. O serie de factori interferă cu absorbţia intestinală a calciului, cum ar fi prezenţa în lumenul intestinal a unei cantităţi mari de oxalaţi (din spanac) de fosfaţi, de acid fitic (din cereale), de fibre alimentare. Absorbţia calciului este diminuată şi în cazul consumului unor medicamente cum ar fi tetraciclina sau doxiciclina, iar un exces de acizi graşi în intestin (cum este cazul în steatoree sau în deficitul de bilă) favorizează formarea săpunurilor insolubile de calciu, scăzând absorbţia acestuia. Vitamina D este necesară pentru o bună absorbţie intestinală a calciului.

Absorbţia calciului din lumenul intestinal are loc prin mai multe mecanisme, realizându-se prin difuzie ionică pasivă, transport activ şi difuzie facilitată. Necesităţile de calciu sunt de 600-800 mg/zi pentru un adult. În perioada sarcinii şi alăptării se recomandă un aport de 1200-1300 mg/zi, iar în copilărie necesarul zilnic de calciu este de 800-1200 mg. La ora actuală se pune accentul şi pe suplimentarea aportului de calciu la persoanele vârstnice, în special la femeile în perioada postmenopauză pentru a preveni sau a atenua manifestările osteoporozei, recomandându-se un aport de 1600-1800 mg/zi (16).

Pierderile de calciu se realizează prin urină şi fecale. Calciul fecal e constituit atât din calciul alimentar neabsorbit, cât şi din cel secretat activ în intestin. Excreţia urinară de calciu este de 100-200 mg/24 ore (5-10 mEq) şi depinde de conţinutul în calciu al alimentelor. Se poate vorbi despre calciurie când eliminările urinare de calciu depăşesc 200 mg/24 de ore în cazul unui regim alimentar liber, şi 150 mg în cazul unui regim alimentar cu restricţie de calciu (14). Excreţia urinară este accentuată de către hipercalcemie, hipofosfatemie, acidoză precum şi de un exces de glucocorticoizi. Parathormonul, unele diuretice şi probabil vitamina D diminuează eliminarea urinară de calciu (16). Aproximativ 2/3 a calciului din filtratul glomerular este reabsorbit în porţiunea ascendentă a ansei Henle şi în tubii distali, în funcţie de nivelul calcemiei, rolul major în controlul ratei de excreţie a calciului fiind jucat de parathormon.

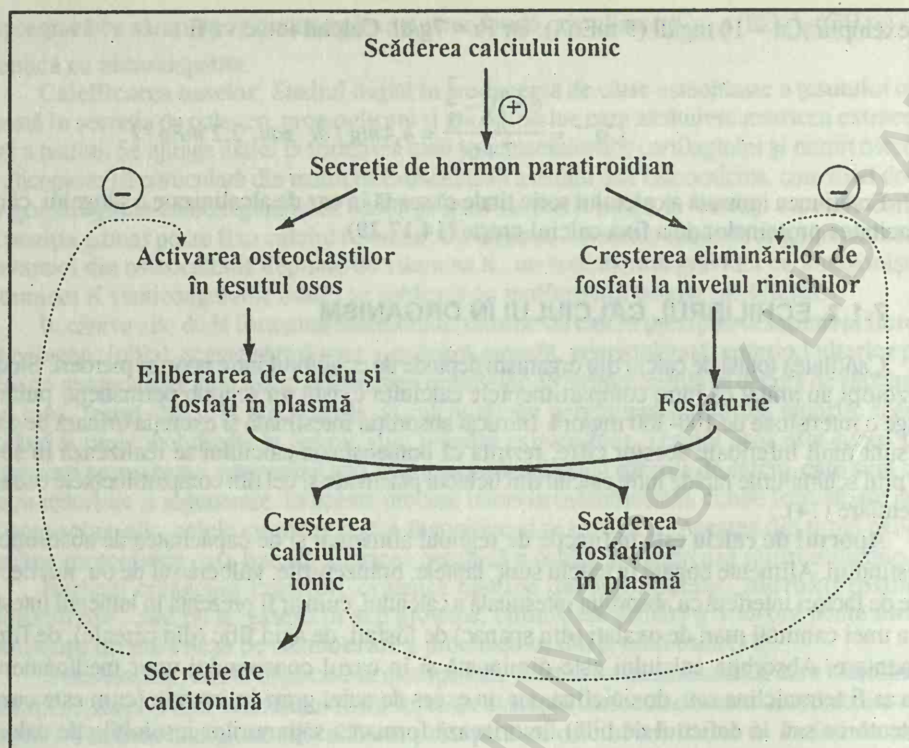


Fig.7.1. Mecanismele de reglare a calcemiei (linia întreruptă reprezintă inhibiţia).

7.1.3. REGLAREA CALCEMIEI

Principalul factor de reglare a calcemiei este reprezentat de hormonul paratiroidian. Calcitonina, produsă în glanda tiroidă, are efecte opuse asupra nivelului calcemiei. Principala ţintă de acţiune a acestor hormoni o constituie rezerva de calciu din oase (12,14,17). Vitamina D creşte absorbţia calciului din intestin şi în cantităţi fiziologice favorizează acţiunea parathormonului (9). În figura 7.1. sunt reprezentate schematic mecanismele de reglare a calcemiei.

7.1.3.1. HORMONUL PARATIROIDIAN (PTH)

Acest hormon polipeptidic secretat de glandele paratiroide are ca efect fiziologic creşterea calciului ionizat în sânge, prin acţiunea sa asupra unor organe ţintă: os, rinichi şi într-o oarecare măsură intestin.

La nivel osos PTH acţionează în două etape. Prima fază, foarte rapidă, duce la eliberarea promptă a fosfaţilor de calciu din sărurile amorfe, prin activarea unei pompe de calciu. A doua etapă, mai lentă (zile sau chiar săptămâni), constă în activarea osteoclastelor, conducând la resorbţia osului (inclusiv matricea organică). Efectul parathormonului de stimulare a osteoclastelor (care nu au receptori de membrană pentru PTH) se realizează indirect, prin

intermediul osteoblastelor - celule prezentând receptori pentru acest hormon - care transmit osteoclastelor un semnal ce le activează (15). Aceste evenimente metabolice au drept consecinţă creşterea calciului şi fosfaţilor în lichidul extracelular.

La nivelul rinichilor, parathormonul duce la o eliminare urinară crescută a fosfaţilor, cu hipofosfatemie consecutivă. Paralel cu diminuarea reabsorbţiei renale a fosfaţilor, parathormonul determină creşterea reabsorbţiei tubulare de calciu.

La nivel intestinal, PTH creşte atât absorbţia calciului cât şi pe cea a fosfaţilor, această acţiune exercitându-se indirect, prin intermediul formei active a vitaminei D - $1.25(OH)_2D$ - formată în rinichi sub acţiunea parathormonului.

Efectele parathormonului asupra organelor ţintă se exercită prin intermediul AMP ciclic ca mesager de ordinul doi.

Reglarea secreţiei de parathormon este realizată în primul rând prin nivelul calcemiei. Rata de secreţie a PTH este invers dependentă de concentraţia calciului extracelular. Scăderea calcemiei stimulează secreţia de parathormon, iar creşterea calcemiei diminuează producţia acestuia.

Acest mecanism feed-back este extrem de sensibil la variaţii foarte mici ale calcemiei. Glandele paratiroide reacţionează prompt (în decurs de minute) la scăderea calcemiei prin creşterea secreţiei de PTH, iar dacă hipocalcemia persistă, glandele se hipertrofiază. Aşa este cazul în rahitism, sarcină şi lactaţie. Pe de altă parte, orice situaţie în care concentraţia calciului este crescută duce la scăderea activităţii şi reducerea dimensiunilor glandelor paratiroide. Acest fenomen survine în: 1) aportul alimentar crescut de calciu; 2) aportul crescut de vitamină D şi 3) resorbţia osoasă cauzată de alţi factori decât PTH (de exemplu o imobilizarea prelungită).

7.1.3.2. CALCITONINA

Calcitonina este un hormon polipeptidic secretat de celulele parafoliculare ale tiroidei (celule C).

Calcitonina reduce concentraţia plasmatică a calciului prin două mecanisme distincte. Primul mecanism se realizează prin scăderea acţiunii resorbtive a osteoclastelor, favorizând astfel depunerea calciului în rezervorul de săruri osoase. Al doilea efect al calcitoninei constă în inhibarea formării de noi osteoclaste. Întrucât scăderea numărului de osteoclaste antrenează în timp şi diminuarea numărului osteoblastelor, rezultatul este o reducere globală a activităţii osteoclastice şi osteoblastice osoase, fără să apară un efect semnificativ asupra concentraţiei plasmatice a ionilor de calciu.

Rolul fiziologic al calcitoninei este de a regla procesul de resorbţie osoasă, prevenind pierderile osoase excesive în situaţii cum ar fi creşterea rapidă, sarcină, lactaţie şi în unele stări patologice asociate cu turnover osos crescut (boala Paget, tireotoxicoză, hiperparatiroidism).

La adult, efectul său asupra concentraţiei plasmatice de calciu este mai slab, din următoarele motive: 1) o reducere iniţială a calcemiei cauzată de calcitonină este urmată în decurs de câteva ore de o stimulare a secreţiei de PTH, care contracarează efectul calcitoninei; 2) la adult, rata zilnică a resorbţiei/depunerii osoase este relativ mică, astfel încât acţiunea calcitoninei la acest nivel are consecinţe reduse asupra calcemiei.

La copii, acest efect este mult mai marcat, deoarece remodelarea osoasă este mai accentuată (4).

Reglarea secreţiei de calcitonină. Eliberarea calcitoninei din celulele parafoliculare ale tiroidei este stimulată de creşterea calcemiei. Acest mecanism acţionează în mod opus faţă de sistemul de control al calcemiei exercitat de PTH. Există două diferenţe majore între

mecanismele de acţiune ale calcitoninei şi PTH: 1) calcitonina acţionează foarte rapid, atingând un maxim de secreţie după o oră, în timp ce parathormonul necesită 3-4 ore pentru a atinge un maximum; 2) calcitonina constituie un mecanism de reglare pe termen scurt a concentraţiei calciului ionic, fiind contracarată de răspunsul paratiroidian mult mai puternic (fapt demonstrat de meţinerea nivelului calcemiei de către PTH singur după ablaţia tiroidei şi deci în lipsa calcitoninei) (15).

În afară de nivelul calcemiei există şi alţi factori care favorizează secreţia calcitoninei. Astfel, hormonii gastrointestinali (gastrina), sau un peptid sintetic analog (pentagastrina), stimulează secreţia de calcitonină aceasta intervenind postprandial pentru a contracara o eventuală creştere bruscă a calcemiei. Alţi hormoni gastrointestinali (colecistokinina, secretina) pot favoriza secreţia de calcitonină.

Administrarea de vitamină D activă (1,25$(OH)_2$D) creşte nivelul plasmatic de calcitonină.

Atât calcitonina cât şi forma activă a vitaminei D sunt crecute în sarcină şi lactaţie, sugerând un rol protector al calcitoninei pentru scheletul matern faţă de necesităţile crescute în calciu ale fătului, respectiv ale sugarului (2).

Ultimii ani au deschis perspective noi ale fiziologiei calcitoninei. Acestea includ descoperirea receptorilor pentru calcitonină în creier, sugerând un posibil rol al acestui hormon ca neuromediator, implicat probabil în perceperea durerii.

Un alt aspect este descoperirea unui peptid, CGRP (Calcitonin Gene Related Peptide - peptidul legat de gena calcitoninei), cu rol de neuromediator, care se formează în creier pornind de la acelaşi transcript primar cu al calcitoninei. O constatare interesantă este aceea că pornind de la gena calcitoninei, în celulele tiroidiene se formează calcitonina, pe când în creier, transcriptul primar suferă o cale diferită de maturaţie posttranscripţională, conducând la o proteină total diferită, CGRP, cu rol de neuromediator.

Se pare că şi alţi hormoni intervin în metabolismul calciului. S-a sugerat că hormonul de creştere ar stimula funcţia paratiroidelor, în timp ce glucocorticoizii au un efect hipocalcemiant, inhibând resorbţia osoasă produsă de parathormon. Pe de altă parte, dozele mari de cortizon limitează formarea matricii proteice a osului şi perturbă astfel osteogeneza. Formarea acestei matrice este favorizată în schimb de către hormonii sexuali androgeni şi estrogeni.

7.1.3.3. VITAMINA D

Această vitamină cu structură similară colesterolului intervine în metabolismul calciului favorizând absorbţia de calciu şi fosfor din intestin şi participă la procesele de mineralizare osoasă. Inclusă în grupul vitaminelor liposolubile, ea se prezintă sub mai multe forme, dintre care cele mai importante sunt vitamina D_2 (ergocalciferol) de origine vegetală, şi vitamina D_3 (colecalciferol) de origine animală. Vitamina D_3 se poate sintetiza şi la nivelul tegumentelor din 7-dehidrocolesterol sub acţiunea radiaţiilor UV.

Alimentele bogate în vitamina D_3 sunt ficatul, gălbenuşul de ou şi uleiul de peşte.

Pentru a deveni fiziologic activă, vitamina D suferă o serie de reacţii (vezi fig. 7.2). Prima etapă are loc în ficat şi constă într-o hidroxilare în poziţia 25 a colecalciferolului, rezultând 25 hidroxicolecalciferol (25OH D). Această etapă este autolimitantă, prin feed-back negativ, de către cantitatea de 25 OH D formată. Având în vedere sediul hepatic al acestei reacţii, pacienţii prezentând afecţiuni parenchimatoase sau colestatice severe au adesea nivele scăzute ale 25-hidroxicolecalciferolului. Pe de altă parte, inducerea sistemului microzomial hepatic de către barbiturice duce la creşterea metabolizării şi inactivării vitaminei D, ceea ce se poate solda cu osteomalacie sau rahitism.

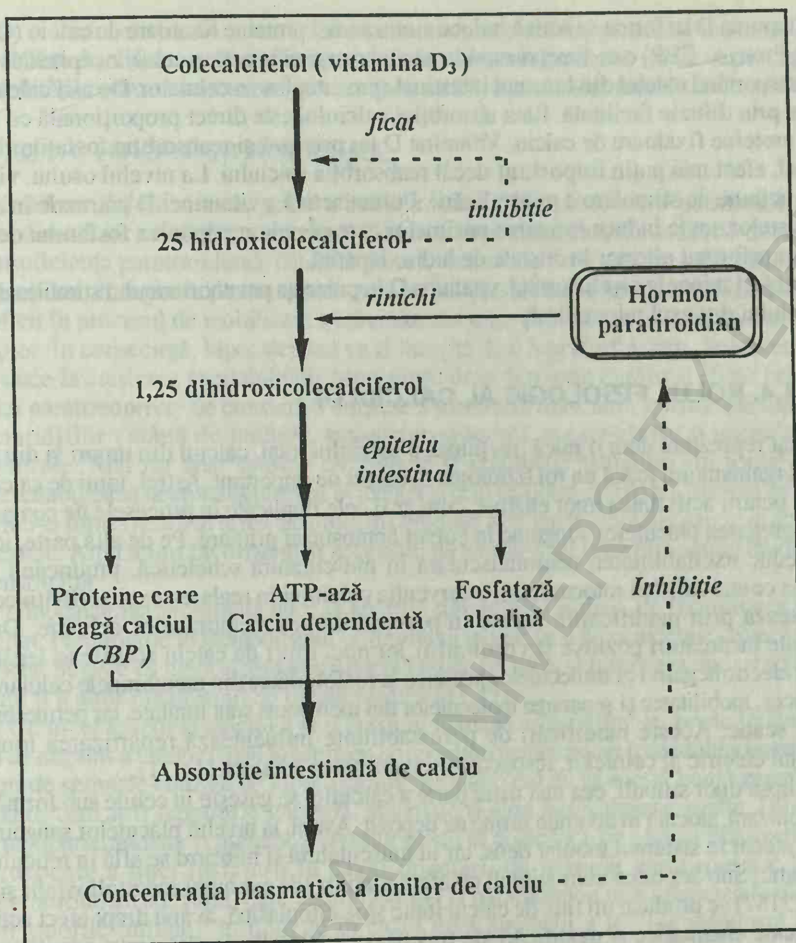


Fig. 7.2. Activarea vitaminei D3 la forma de 1,25 dihidroxicolecalciferol şi rolul vitaminei D în controlul concentraţiei plasmatice de calciu.

Următoarea etapă în activarea vitaminei D are loc la nivel renal şi constă într-o hidroxilare în poziţia 1 a 25 hidroxicolecalciferolului, sub acţiunea unei 1-hidroxilaze, rezultând 1,25 dihidroxicolecalciferol (1,25 $(OH)_2D$) forma cea mai activă a vitaminei D_3. Această etapă necesită prezenţa parathormonului. Formarea 1,25 $(OH)_2D$ este influenţată şi de nivelul calciului plasmatic (9). O creştere a calcemiei duce la diminuarea formării 1,25 dihidroxicolecalciferolului atât prin efectul direct al ionilor de calciu cât mai ales prin intermediul scăderii hormonului paratiroidian, a cărui secreţie e inhibată de creşterea calcemiei. La vârstnici, capacitatea rinichiului de a converti 25 OH D în 1,25 (OH)D este diminuată, determinând o absorbţie redusă a calciului intestinal, respectiv o mobilizare crescută a calciului osos pentru a menţine calcemia în limite normale.

Vitamina D în forma sa activă induce sinteza unei proteine fixatoare de calciu (Calcium Binding Protein - CBP) care funcţionează la nivelul marginii în perie a celulelor epiteliale intestinale, transportând calciul din lumenul intestinal spre citoplasma celulelor. De aici calciul trece în sânge prin difuzie facilitată. Rata absorbţiei calciului este direct proporţională cu nivelul acestei proteine fixatoare de calciu. Vitamina D favorizează şi reabsorbţia fosfaţilor la nivel intestinal, efect mai puţin important decât reabsorbţia calciului. La nivelul osului, vitamina D are o acţiune de stimulare a mineralizării. Forma activă a vitaminei D pătrunde în nucleul osteoblastelor, unde induce formarea enzimelor care permit precipitarea fosfatului de calciu amorf, transformat ulterior în cristale de hidroxiapatită.

Ca efect minor la nivelul osului, vitamina D în prezenţa parathormonului stimulează resorbţia calciului din osul mineralizat.

7.1.4. ROLUL FIZIOLOGIC AL CALCIULUI

Deşi reprezintă doar o mică fracţiunea a calciului total, calciul din umori şi din părţile moi ale organismului joacă un rol fiziologic deosebit de important. Astfel, ionii de calciu sunt necesari pentru activitatea unor enzime, cum ar fi cele implicate în procesele de coagulare şi pentru agregarea plăcuţelor sanguine în cursul hemostazei primare. Pe de altă parte, ionii de calciu reduc excitabilitatea neuromusculară în musculatura scheletică, producând însă o creştere a contractilităţii miocardului. Intervenţia calciului în reglarea excitabilităţii celulare se realizează prin modificările induse în permeabilitatea membranelor celulare. Datorită dublei sale încărcături pozitive şi volumului lor mic, ionii de calciu stabilesc legături cu radicalii electronegativi ai moleculelor proteice şi fosfolipidice din membranele celulare. Prin acest proces, mobilitatea şi separarea moleculelor din membrană sunt limitate, iar permeabilitatea celulară scade. Aceste modificări de permeabilitate influenţează repartizarea ionilor şi potenţialul electric al celulelor, respectiv excitabilitatea acestora (14,31).

În lipsa unor stimuli, cea mai mare parte a calciului se găseşte în celule sub formă inactivă, neionizată, stocată în anumite forme de depozit. Astfel, la nivelul plăcuţelor sanguine calciul este stocat în sistemul tubular dens, iar în musculatură şi miocard se află în reticulul sarcoplasmatic. Sub acţiunea unor stimuli cu efect ionofor (de exemplu inozitolfosfaţii şi ionoforul A 23187) se produce un flux de calciu ionic spre citoplasmă, având drept efect activarea unor sisteme enzimatice şi modificări ale funcţiei celulelor. Pe de altă parte, agenţii antagonişti ai calciului (verapamil, nifedipin) reduc creşterea calciului ionic din citoplasma celulelor.

7.2. PERTURBAREA METABOLISMULUI CALCIULUI

Patologia calciului implică modificări ale nivelului calcemiei şi modificări ale proceselor de osteogeneză şi osteoliză.

7.2.1. HIPOCALCEMIILE

În prezenţa unei hipocalcemii este important să se precizeze dacă scăderea calciului se realizează pe seama celui ionizat sau pe seama celui legat de proteine.

Scăderea calciului nedifuzibil (legat de proteine) însoţeşte orice hipoproteinemie aparentă sau reală. Scăderi ale calcemiei se pot întâlni în hiperhidratări, în sindromul

nefrotic şi în denutriţie. În această ultimă situaţie poate scădea şi calciul ionic, ca urmare a unui deficit de vitamina D. Scăderea calciului legat de proteine nu se repercută asupra excitabilităţii neuromusculare, având deci o semnificaţie clinică minoră.

7.2.1.1. HIPOPARATIROIDISMUL

Scăderea calciului ionic poate fi bănuită atunci când proteinele plasmatice prezintă valori normale iar calcemia este redusă. Cea mai importantă cauză a scăderii calciului ionic este insuficienţa paratiroidiană, datorată de cele mai multe ori lezării paratiroidelor în cursul intervenţiilor chirugicale pentru tiroidectomie. În lipsa hormonuluii paratiroidian se produce un deficit în procesul de mobilizare a calciului din oase şi în procesul de eliminare urinară a fosfaţilor. În consecinţă, hipocalcemia va fi însoţită de o hiperfosfatemie. Scăderea calciului ionic duce la creşterea excitabilităţii neuromusculare, fenomen exprimat clinic prin apariţia tetaniei paratireoprive. Se constată o creştere a tonusului muscular, spasme ale musculaturii extremităţilor (mână de mamoş, spasm carpopedal), spasm glotic şi uneori convulsii generalizate. Mai rar apar spasme esofagiene şi fenomene astmatice. În formele latente, hiperexcitabilitatea neuromusculară se evidenţiază prin scăderea cronaxiei. Tetania latentă poate trece într-o formă acută în urma alcalinizării produse prin hiperventilaţie sau în urma ingestiei de alcaline. Alţi factori favorizanţi ai accesului de tetanie sunt infecţiile acute, traumatismele şi menstruaţia.

Hipocalcemia prelungită duce la apariţia tulburărilor trofice, cu friabilitatea părului şi unghiilor. Perturbările în metabolismul cristalinului induse de o hipocalcemie cronică pot cauza cataractă. Se pare că hipocalcemia persistentă poate favoriza şi instalarea unor stări depresive precum şi a altor manifestări de natură psihică (17,29).

Un nivel scăzut al calciului şi o creştere marcată a fosfaţilor se poate întâlni în cazul lipsei de răspuns a tubilor renali la acţiunea hormonului paratiroidian (pseudohipoparatiroidism). Alături de semnele cauzate de hipocalcemie, se mai constată în acestă boală genetică şi alte anomalii, cum ar fi hipotrofie staturală, obezitate şi oase metacarpiene scurte. Diferenţierea între hipoparatiroidism şi pseudohiporaratiroidism se poate face prin testul Ellsworth-Howard de provocare a unei fosfaturii în cazul injectării de hormon paratiroidian. În caz de hipoparatiroidism adevărat, tubii renali răspund la parathormon prin creşterea fosfaturiei (de 10 ori valorile iniţiale), în timp ce în cazul unei anomalii a tubilor răspunsul nu apare. Recoltările de urină se fac la 3 ore înainte şi la 3 ore după injectarea de hormoni (32).

O probă de laborator mult mai fidelă constă în determinarea creşterii urinare a 3-5 AMP ciclic în urma administrării de hormon paratiroidian. Această creştere lipseşte la bolnavii cu pseudohipoparatiroidism, în timp ce la normali sau la bolnavii cu deficit de parathormon valorile 3-5 AMP ciclic urinar cresc de 10-20 de ori (7).

7.2.1.2. HIPERSECREŢIA PATOLOGICĂ DE CALCITONINĂ

Apare în principal în carcinomul medular tiroidian, dar şi în alte neoplazii cum ar fi melanomul, cancerul pulmonar, prostatic, uterin, pancreatic, unele leucemii. Efectul secreţiei excesive de calcitonină este apariţia hipocalcemiei asociate cu hipofosfatemie.

Carcinomul tiroidian poate secreta şi alte peptide cu efect hormonal de tip ACTH, care duc la apariţia unui sindrom Cushing. Există şi posibilitatea asocierii carcinomului tiroidian cu alte adenoame endocrine, mai ales cu feocromocitoamele producătoare de catecolamine, când se realizează aşa numitul sindrom Sipple (22).

7.2.1.3. DEFICITUL DE VITAMINA D

Având în vedere rolul vitaminei D în economia metabolismului fosfocalcic, este de așteptat ca deficitul acestei vitamine realizat prin diferite mecanisme să determine apariția hipocalcemiei.

Rahitismul este o tulburare de mineralizare a osului în creștere. La copil, în majoritatea cazurilor boala apare datorită unui deficit de vitamina D, realizând așa-zisul rahitism carențial sau vitamino-D sensibil. Mai rar este determinat de alți factori, realizând rahitismul vitamino-D rezistent. La adult, deficitul de vitamină D determină osteomalacia.

Rahitismul carențial se produce prin:

1) deficit al sintezei tegumentare de vitamină D (expunere insuficientă la razele solare)
2) aport neadecvat de vitamină D
3) creșteri rapide în greutate, cu necesar crescut de vitamină D (sugari, prematuri, gemeni)
4) afecțiuni organice care determină o tulburare a absorbției sau a activării vitaminei D (boli digestive, hepatice, renale), caz în care se vorbește de rahitism carențial secundar.

Carența de vitamina D duce la un deficit de absorbție intestinală a calciului ceea ce determină o tendință spre hipocalcemie. Hipocalcemia declanșează un hiperparatiroidism secundar, tinzând să restabilească nivelul calciului seric pe seama mobilizării sale din oase. Alături de hipocalcemie sunt prezente hipofosfatemia și hiperfosfaturia.

În convalescență, când prin administrare de vitamină D se reia absorbția normală de calciu, hiperparatiroidismul cedează, cu normalizarea sau chiar creșterea temporară a fosfatemiei. Mineralizarea osoasă accentuată din această perioadă poate duce la scăderea marcată a calciului plasmatic, care în lipsa unei administrări exogene de calciu poate duce la tetanie.

Rahitismul vitamino-D rezistent înregistrează forme primitive, apărând în cadrul unor boli genetice, și forme secundare unor boli organice sau unor tratamente medicamentoase ce perturbă metabolismul normal al vitaminei D. În cadrul formelor primitive menționăm rahitismul hipocalcemic vitamino-D rezistent - boală autosomal recesivă datorată unui deficit al enzimei 1- hidroxilază renală, responsabilă de convertirea 25 hidroxicolecalciferolului la 1,25 dihidroxicolecalciferol (ale cărui valori sunt scăzute în plasmă). Deficitul genetic de fosfatază alcalină de origine ososasă se soldează de asemenea cu un rahitism rezistent la vitamina D.

Formele secundare apar în special în boli digestive în care este perturbată absorbția vitaminei D (deficit de lipază pancreatică cu steatoree, obstrucții ale căilor biliare, boli intestinale evoluând cu maldigestie și malabsorbție). În bolile hepatice (hepatite cronice, ciroze) poate apare un deficit de 25 hidroxilază hepatică, perturbându-se prima treaptă de hidroxilare a vitaminei D. La aceasta se pot adăuga tulburările de absorbție intestinală a vitaminei D, datorate eventualei colestaze asociate.

Merită semnalat comportamentul diferit al fosfatazei alcaline în funcție de mecanismul de producere a hipocalcemiilor. Astfel în hipocalcemiile consecutive unui deficit de hormon paratiroidian fosfataza alcalină este normală, pe când în deficitul primar de calciu (de exemplu în rahitism) sau în afecțiuni renale cu pierdere de calciu fosfataza alcalină este de regulă crescută. Mecanismul intim al acestui fenomen pare a fi legat de hiperparatiroidismul secundar hipocalcemiei. Acesta duce la procese de resorbție osoasă și la un răspuns compensator al osteoblastelor care secretă fosfatază alcalină. În tabelul 7.1. sunt menționate câteva criterii pentru diagnosticul hipocalcemiilor și tetaniilor.

Tabel 7.1.

Diagnosticul diferențial al hipocalcemiilor și tetaniilor (N=normal; PTH = hormon paratiroidian)

Starea patologică	Nivelul plasmatic de:					Fosfaturia provocată de PTH (test Ellsworth-Howard)	Semne de tetanie	Observații
	Ca	PO_4	Proteine	Uree; creatinină	Fosfatază alcalină			
A. Scăderea calciului legat de proteine 1. Hiperhidratare	↓	N sau ↓	↓	N sau ↓	N sau ↓		Absente	Se normalizează după restricția lichidelor
2. Deficit de proteine	↓	N	↓	N sau ↓	N		Absente	Adeseori asociat cu carențe multiple. Se va căuta etiologia și patogeneza carenței
B. Scăderea calciului ionizat 1. Hipoparatiroidism	↓	↑	N	N	N	Răspuns crescut	Prezente	Dozări de PTH
2. Pseudohiporaratiroidism	↓	↑	N	N	N	Răspuns diminuat	Prezente	Anomalia foarte rară; dozări de PTH; dozări de cAMP în urină
3. Insuficiență renală	↓	N sau ↑	N sau ↓	↑	N sau ↑	Răspuns diminuat	Uneori prezente	În caz de acidoză tetania nu apare
4. Deficit de vit.D	↓	↓	N	N	↑		Uneori prezente	Tetania poate apare la începutul terapiei cu vit.D
C. Alcaloză 1. Metabolică	N	↑ sau N	N	N	N		Prezente	pH crescut; bicarbonați crescuți
2. Respiratorie	N	N	N	N	N		Prezente	pH crescut; pCO_2 scăzut

7.2.1.4. ALTE HIPOCALCEMII

În insuficienţa renală, alături de retenţia azotată există şi retenţie de acizi organici capabili să fixeze calciul sub formă neionizabilă, ceea ce duce la scăderea calciului ionic. S-a sugerat (9) că la instalarea hipocalcemiei contribuie şi defectul de hidroxilare renală a 25-hidroxicolecalciferolului. De notat că în insuficienţa renală nivelul de PTH este de regulă crescut ca urmare a scăderii calciului ionic şi se bănuieşte că reactivitatea scăzută a plăcuţelor sanguine la astfel de bolnavi s-ar datora creşterii acestui hormon.

În pancreatita acută lipaza eliberată din ţesuturile necrozate produce lipoliză, cu generarea crescută de acizi graşi. Aceştia precipită cu calciul formând săpunuri de calciu insolubile ceea ce determină scăderea calciului ionic.

7.2.2. HIPERCALCEMIILE

Creşterea calciului legat de proteine survine doar în caz de hemoconcentraţie şi nu are o semnificaţie funcţională sau clinică. Ea coincide cu o creştere a hematocritului şi a concentraţiei proteinelor totale şi se rezolvă odată cu rehidratarea pacientului.

Creşterea calciului ionizat prezintă o semnificaţie deosebită, deoarece ea denotă de cele mai multe ori o decalcifiere a ţesutului osos, iar eliminările crescute de calciu pe cale renală pot provoca leziuni ale tubilor. Cea mai frecventă cauză de hipercalcemie este hiperparatiroidismul.

7.2.2.1. HIPERPARATIROIDISMUL

Datorită perfecţionării tehnicilor de dozare radio-imunologică a hormonului paratiroidian s-au putut contura o serie de condiţii patologice evoluând cu hipersecreţie de hormon (14,17,33). Se disting astfel:

a. hiperparatiroidismul primar este cauzat de obicei de adenoame benigne ale paratiroidelor şi rareori de carcinoame ale acestor glande. Hiperplazia difuză a paratiroidelor poate fi de asemenea o cauză de hiperparatiroidism. Secreţia de parathormon în aceste cazuri este autonomă, fiind independentă de nivelul calcemiei.

b. hiperparatiroidismul secundar survine ca un răspuns al organismului la acţiunea agenţilor care tind să determine o scădere a calciului ionic. Asemenea situaţii apar în rahitism şi osteomalacie, în sarcină şi lactaţie. Paratiroidele hiperplaziate secretă mari cantităţi de hormon a cărui concentraţie poate creşte de la 0,5-1 ng/ml la valori de 15-20 ng/ml. Spre deosebire de hiperparatiroidismul primar, în cel secundar secreţia de hormon este reglată de nivelul calcemiei, iar când aceasta se normalizează, hipersecreţia de hormon încetează (feed-back negativ). De aceea, în hiperparatiroidismul secundar, calcemia nu este niciodată crescută. Prin hiperparatiroidismul secundar, organismul previne prăbuşirea calcemiei şi instalarea tetaniei, dar acesta se realizează prin spolierea calciului din oase.

c. hiperparatiroidismul terţiar reprezintă o situaţie în care printr-o stimulare prelungită a paratiroidelor de către o scădere persistentă a calciului ionizat se ajunge la hipertrofierea marcată a acestora şi la o hipersecreţie autonomă, având toate caracteristicile unui hiperparatiroidism primar.

Hipercalcemia este o complicaţie frecventă a bolilor maligne, survenind în special la pacienţi cu mielom, cancer mamar avansat sau cancer pulmonar (2,25). Cauza principală este

legată de prezența metastazelor osoase osteolitice, acestea acționând prin activarea osteoclastelor, precum și prin efectul eroziv al celulelor tumorale. O serie de tumori produc factori ce stimulează receptorul pentru PTH. Acești factori pot fi responsabili pentru manifestările clinice ale hipercalcemiei în boli maligne, incluzând pierderea renală de fosfați, generarea crescută de ciclic-AMP și reabsorbția renală crescută de calciu.

Creșterea nivelului plasmatic de parathormon survine frecvent în insuficiența renală cronică și pare a se datora nu doar unui clearance deficitar ci și unei hipersecreții. Există indicii că excesul de parathormon ar putea contribui la explicarea unor manifestări patologice din uremie, cum ar fi anomaliile neurologice, pruritul, necrozele osoase și hipoagregabilitatea plachetară (3).

Semnele de laborator în hiperparatiroidism constau în hipercalcemie (valori peste 5,5 mEq/l), hipofosfatemie (valori sub 0,75 mmoli/l), hipercalciurie (peste 200 mg/24 ore) și hiperfosfaturie (manifestare inconstantă și nepatognomonică).

Tehnicile actuale de radioimunodozare permit determinarea nivelului de parathormon, care este crescut în hiperparatiroidism. Această dozare este extrem de utilă pentru a distinge hiperparatiroidismul de alte cauze de hipercalcemie (unde parathormonul este normal sau nedetectabil). De asemenea, ea detectează un hiperparatiroidism secundar unde hipercalcemia lipsește (14).

Creșterea fosfatazei alcaline osoase reprezintă semnul caracteristic pentru reacțiile osteoblastice compensatorii, cu mențiunea că în formele de debut ale hiperparatiroidismului primar fără afectarea exprimată a țesutului osos valorile acestei enzime sunt puțin modificate (14,29,33).

Un semn util, în special pentru evidențierea afectării scheletului, constă în creșterea eliminărilor urinare de hidroxiprolină (peste 65 mg în 24 de ore).

Măsurarea 3,5 ciclic AMP urinar arată valori crescute în hiperparatiroidism, dar și în unele neoplazii.

Manifestările clinice în hiperparatiroidism sunt legate de efectele hormonului paratiroidian asupra țesutului osos și asupra rinichilor.

a) **Leziunile osoase** sunt realizate prin proliferarea osteoclaștilor care lizează matricea de colagen și duc la resorbția sărurilor minerale din os. Acest proces antrenează o proliferare compensatorie a osteoblastelor, care duce la creșterea fosfatazei alcaline. Este important de știut că în hiperparatiroidismul primar, afectarea oaselor devine clinic manifestă doar în formele cu durată prelungită. În aceste cazuri, leziunile osoase realizează boala von Recklinghausen (osteoza fibrochistică sau osteoza fibroasă generalizată), care se manifestă clinic prin dureri osoase asociate cu deformări ale oaselor; radiologic se constată o decalcifiere generalizată, eroziuni subperiostale și formarea de chisturi în oase; histologic se observă o creștere marcată a numărului de osteoclaste. Uneori se asociază o reacție osteoblastică căreia îi corespunde în plan umoral o creștere a activității fosfatazei alcaline. Distrucțiile osoase se însoțesc de creșterea eliminării urinare a unor polipeptide conținând hidroxiprolină, indicând degradarea colagenului din matricea organică a osului. Toate manifestările cedează spectaculos după extirparea paratiroidelor. Calciul seric scade, iar reacția osteoclastică este oprită. Evident, în astfel de situații lipsa administrării de calciu poate duce la tetanie.

În hiperparatiroidismul secundar asociat unui deficit de vitamină D (rahitism sau osteomalacie) manifestările osoase sunt diferite. Astfel, în rahitism apar deformări osoase tipice: la nivelul craniului bose frontale și/sau parietale, torace turtit lateral, stern în carenă și mătănii costale, modificări variabile ale coloanei vertebrale, brățări radiale sau boselări ale tibiei. Histologic predomină osteoidul necalcificat. Reacția osteoclastică este mai puțin exprimată, iar osteoblastele, totdeauna crescute, coincid cu o creștere marcată a fosfatazei alcaline, care

de cele mai multe ori depăşeşte valorile întâlnite în hiperparatiroidismul primar. Fenomenele cedează la administrarea de calciu şi vitamină D.

b) **Afectarea rinichiului** survine doar în hiperparatiroidismul primar şi terţiar în care există o hipercalcemie şi o hipercalciurie persistentă. Aceste leziuni renale apar în special atunci când urina tinde să devină alcalină, ceea ce favorizează precipitarea fosfaţilor de calciu. Alcalinizarea urinii survine în caz de ingestie de alcaline în boala ulceroasă, consumul mare de alimente alcaline, cum este laptele sau în unele infecţii urinare (de exemplu cu Proteus). Principalele forme clinice realizate sunt nefrolitiaza şi nefrocalcinoza.

În nefrolitiază predomină formarea de calculi de fosfat de calciu radioopaci. Deşi numeroşi pacienţi cu hiperparatiroidism ajung la nefrolitiază, totuşi abia 1-5% din cazurile de nefrolitiază sunt cauzate de hiperfuncţia paratiroidelor. În rest, se incriminează procese osteoporotice, cauzate de imobilizări prelungite, leziuni metastatice distructive ale oaselor, infecţii ale tractului urinar sau o predispoziţie constituţională.

În nefrocalcinoză, depunerile de fosfat de calciu au loc chiar în parenchimul renal, afectând în timp funcţia rinichilor, scleroza renală şi uremia instalându-se chiar şi după tratarea hiperparatiroidismului. Alterarea funcţiei renale duce încă din fazele iniţiale la o creştere a eliminărilor de calciu care nu se mai retroresoarbe din filtratul glomerular. De asemenea, deficitul de retroresorbţie a apei duce la o poliurie precoce. Pe de altă parte, diminuă eliminările de fosfor, tubii renali devenind incapabili să răspundă la hormonul paratiroidian. Pe măsura acumulării de uree diagnosticul de hiperparatiroidism devine mai dificil, necesitând dozarea parathormonului.

c). **Modificarea excitabilităţii neuromusculare** apare adeseori în hiperparatiroidismele care evoluează cu creşteri marcate ale calcemiei. Scăderea excitabilităţii neuromusculare în musculatura striată şi netedă explică hipotonia musculară şi constipaţia rebelă a acestor pacienţi. Anorexia, greaţa şi voma hipercalcemicilor pot fi explicate printr-un efect central.

d). **La nivelul inimii** hipercalcemia poate provoca modificări funcţionale care se evidenţiază electrocardiografic. În cazul creşterii bruşte a calcemiei peste 7,5 mEq/l apare riscul stopului cardiac.

7.2.2.2. ALTE HIPERCALCEMII

Intoxicaţia cu vitamină D. Ingestia cronică de vitamină D duce la o creştere a absorbţiei intestinale de calciu şi probabil şi la o creştere a resorbţiei sale osoase, provocând astfel hipercalcemie. Nivelul calciului se normalizează prin întreruperea tratamentului cu vitamină D, restricţia calciului alimentar şi hidratare. Depozitele de vitamină D persistă săptămâni după oprirea administrării acesteia. Uneori se impune tratamentul cu glucocorticoizi pentru a ameliora hipercalcemia persistentă sau severă, normocalcemia instalându-se în decurs de câteva zile după 100 mg de cortizon (2).

În alte cazuri există o sensibilitate exagerată a organismului la doze fiziologice de vitamina D, cum este cazul **hipercalcemiei idiopatice a sugarului** (sindromul Williams). În această situaţie se presupune un deficit în procesul de inactivare al vitaminei D.

În **sarcoidoză**, precum şi în alte boli granulomatoase, apare o producţie excesivă şi nereglată de 1,25-dihidroxi-colecalciferol, care este sintetizat la nivelul macrofagelor şi altor celule din granuloame. Expunerea la soare sau administrarea de doze mici de vitamina D duc la creşterea metabolitului activ al vitaminei D şi hipercalcemie consecutivă (2). De asemenea, într-o serie de situaţii asociate cu un turnover osos accelerat (hipertiroidism, imobilizare prelungită) poate apare hipercalcemie.

În **hipertiroidism** apare o creştere a resorbţiei osoase, probabil printr-un efect direct al tiroxinei asupra scheletului.

Imobilizarea la adulţi este rareori însoţită de hipercalcemie în absenţa unei boli asociate. Hipercalcemia poate însă să survină în acest context la copii şi adolescenţi, în special după traumatismele medulare cu paraplegie sau tetraplegie. Mecanismul implică o modificare a ratei turnoverului osos în care resorbţia predomină asupra mineralizării.

Administrarea de diuretice tiazidice poate cauza hipercalcemie mai ales la pacienţii cu rată crescută a turnoverului osos, cum ar fi cei cu hipertiroidism sau osteoporoză juvenilă.

Hipercalcemiile ce însoţesc afecţiunile maligne ale oaselor se produc atât prin acţiunea locală distructivă, cauzată de procesul malign, cât şi prin eliberarea în unele cazuri a unor peptide cu acţiune similară cu cea a hormonului paratiroidian (producere ectopică) aşa cum s-a arătat mai sus.

Fosfataza alcalină este de regulă crescută în metastazele osoase ale carcinoamelor mamare, tiroidiene, ovariene şi pulmonare, când se produce o reacţie osteoblastică compensatorie faţă de distrucţiile osoase. În schimb, în mielomul multiplu, fosfataza alcalină nu este crescută (17,33).

Hipercalcemia din sindromul lapte-alcaline poate apare la pacienţii suferind de ulcer gastric şi duodenal (17), fiind totuşi o situaţie mai rar întâlnită actualmente.

7.2.3. AFECŢIUNI ALE OASELOR CARE NU MODIFICĂ NIVELUL CALCEMIEI

Există şi afecţiuni ale oaselor în care nivelul calciului plasmatic nu e modificat semnificativ (1,14,17,33).

Osteoporoza se caracterizează prin reducerea matricei proteice a oaselor, cu o decalcifiere secundară. O astfel de situaţie poate surveni în carenţa de proteine sau în caz de catabolism proteic excesiv, precum şi în imobilizarea prelungită (mişcările şi presiunea exercitată asupra ţesutului osos constituind un stimul fiziologic al osteoblastelor). Osteoporoza s-a mai descris şi în deficitul de estrogeni, în decursul procesului de îmbătrânire, precum şi după administrarea de medicamente cum ar fi hormonii tiroidieni, glucocorticoizii, anticoagulantele, preparatele de litiu şi anticonvulsivantele (2).

În osteoporoză mobilizările de calciu şi fosfaţi din oase se pretrec treptat şi nu ajung să depăşească capacitatea de eliminare renală, astfel încât aceste minerale nu cresc în ser. Deoarece reacţia osteoblastică lipseşte sau este abia schiţată şi doar în mod trecător, fosfataza alcalină este normală sau uşor crescută. Aceste date de laborator permit de altfel diagnosticul diferenţial faţă de osteomalacie.(14,17,33)

Boala lui Albright sau displazia fibroasă a osului este o afecţiune rară, apărută înainte de pubertate, în care apar leziuni osoase diseminate şi pigmentări cutanate segmentare, iar uneori este prezentă şi precocitatea sexuală la fetiţe. Etiopatogenia bolii este neclară iar modificările umorale sunt minime.

Boala Paget (osteita deformantă) constituie o afecţiune diseminată dar nu generalizată a oaselor, caracterizată prin resorbţie osoasă exagerată urmată de regenerare excesivă. Concentraţia plasmatică de calciu şi fosfaţi este în limite normale, la fel şi nivelul hormonului paratiroidian, ca şi eliminarea urinară de calciu. Aceste observaţii sugerează că eliberarea crescută de minerale care decurge din resorbţia osoasă accelerată este însoţită de reutilizarea calciului şi fosfaţilor în zonele de osteogeneză. Creşterea fosfatazei alcaline este însă deosebit de exprimată (14). Caracteristică este şi eliminarea unor fragmente polipeptidice scurte, conţinând hidroxiprolină, expresie a catabolismului exagerat al matricii proteice a osului (19).

Hipofosfatazia este o afecţiune genetică care se manifestă de obicei la sugari, fiind însă întâlnită şi la adulţi. Boala are caracter autosomal recesiv; cu toate că este foarte rară, ea are o importanţă teoretică deosebită, deoarece leziunile osoase de tip rahitic rezistente la vitamina D se asociază cu o scădere pronunţată a fosfatazei alcaline şi o creştere a fosfoetanolaminei în plasmă şi în urină. Se presupune că mecanismul patogenetic principal ar fi un deficit în sinteza de fosfatază alcalină osoasă. Creşterea fosfoetanolaminei (care în mod normal intră în compoziţia unor fosfolipide, şi anume a cefalinelor) poate sugera că acest ester fosforic al etanolaminei constituie substratul fiziologic al fosfatazei alcaline în oase. Lipsa enzimei duce la acumularea de substrat, respectiv de fosfoetanolamină, care ajunge la eliminări urinare de peste 30 mg pe zi, în timp ce la normali această substanţă nu este detectabilă în urină.

Apariţia manifestărilor de rahitism în prezenţa unui nivel normal al calciului şi al fosfaţilor serici, precum şi rezistenţa la vitamina D a perturbărilor osoase demonstrează rolul important al fosfatazei alcaline în mineralizarea ţesutului osteoid. Este de notat faptul că tratamentul cu vitamina D al bolnavilor cu hipofosfatazie nu numai că nu ameliorează menifestările osoase, dar poate duce la hipercalcemii, hipercalciurii şi nefrolitiază. Fenomenul se explică prin faptul că absorbţia intestinală de calciu şi fosfaţi sub acţiunea vitaminei D nu este urmată de depunerea lor în oase (4,17).

Perturbările reabsorbţiei tubulare a fosfaţilor, aşa cum survin în unele boli cu caracter familial afectând tubii renali, se pot repercuta asupra procesului de osificare, prin carenţa de fosfaţi la care se ajunge. Aceşti pacienţi prezintă leziuni osoase similare cu cele întâlnite în rahitism, care însă nu răspund la tratamentul cu vitamina D. Sindromul poartă numele de rahitism hipofosfatemic vitamino-D rezistent. Pe plan umoral se constată o hipofosfatemie cu calciu seric în limite normale şi o creştere a fosfatazei alcaline. Când pierderile de fosfaţi fac parte dintr-un defect mai generalizat de reabsorbţie tubulară, se realizează sindromul Toni-Debré-Fanconi, prin urină pierzându-se totodată glucoză şi acizi aminaţi (17).

7.2.4. DIAGNOSTICUL DIFERENŢIAL AL HIPERCALCEMIILOR ŞI AL BOLILOR OSOASE

Constatarea unor leziuni osoase sau a unei hipercalcemii implică probleme dificile de diagnostic. O prezentare schematică a problemelor de diagnostic diferenţial în astfel de situaţii este redată în tabelul 7.2. Modificările calciuriei şi fosfaturiei sunt mijloace adjuvante de diagnostic diferenţial, iar o exagerare a fosfaturiei asociată cu o calciurie poate indica un proces de resorbţie a mineralelor din oase, cum este cazul în hiperparatiroidism. Este de menţionat faptul că eliminarea urinară de calciu şi fosfaţi este condiţionată de starea funcţiei renale. O leziune tubulară poate interfera cu retroresorbţia calciului, iar o leziune glomerulară poate reduce pierderile de calciu prin urină, chiar în prezenţa unei hipercalcemii. A fost descrisă şi o hipercalciurie idiopatică, fără hipercalcemie şi care poate evolua cu formare de calculi. În funcţie de natura enzimatică a suferinţei tubilor renali se poate ajunge fie la o insuficientă eliminare a fosfaţilor (de exemplu în pseudohipoparatroidism), fie la o pierdere excesivă a acestora (de exemplu în sindromul Fanconi). Insuficienţa renală evoluează cu retenţie de fosfaţi.

Au fost imaginate diferite teste de excreţie a fosfaţilor, apreciindu-se clearance-ul fosfaţilor în funcţie de clearance-ul creatininic, dar valoarea acestor teste pentru diagnosticul diferenţial al hiperparatiroidismului este discutabilă. De altfel, eliminările urinare de fosfaţi depind în mare măsură de aportul alimentar.

Pentru diagnosticul diferenţial al hipercalcemiilor s-a utilizat testul de supresiune prin steroizi, când după administrarea unor doze mari de hidrocortizon (3 x 40 mg/zi timp de 10

Tabel 7.2.

Diagnosticul diferențial al hipercalcemiilor și al unor boli osoase

Starea patologică	Nivelul plasmatic de:				Test de scădere a calcemiei după cortizon	Observații
	Ca	PO_4	Proteine	Fosfatază alcalină		
A. Creșterea calciului legat de proteine 1. Deshidratare	↑	N sau ↑	↑	N		Semne de deshidratare. Uree crescută. Se corectează prin hidratare
B. Creșterea calciului ionic 1. Hiperparatiroidism	↑	↓	N	N sau ↑	negativ	Modificări ale Ca și PO_4 pot fi mascate de o insuficiență renală
2. Producere ectopică de hormon (procese maligne)	↑	↓	N (↑ în mielom)	N sau ↑ (N în mielom)	pozitiv	Manifestări date de tumora primitivă
3. Supradozaj vit. D	↑	variabil	N	N	pozitiv	Se poate deduce din anamneză
4. Sarcoidoză	↑	variabil	N	N	pozitiv	Rară; Asociate cu subfebrilități, splenomegalie
5. Tireotoxicoză	↑	N sau ↑	N	N sau ↑	pozitiv	Doar în forme severe
6. Sindrom lapte alcaline	↑	N sau ↑	N	N sau ↑	pozitiv	Astăzi foarte rar. Se deduce din anamneză
C. Boli ale oaselor fără hipercalcemie 1. Osteoporoză	N	N	N	N		După imobilizări prelungite, carența de proteine, postmenopauză, senilitate
2. Boala Paget	N	N	N	↑		Creșteri tranzorii ale calcemiei după imobilizări pentru fracturi osoase
3. Hipofosfatazie	N	N	N	↓↓		Defect genetic foarte rar, excreția crescută de fosfoetanolamină
4. Defect de reabsorbție tubulară a fosfaților	N	↓	N	↑		Se asociază uneori cu defecte de reabsorbție tubulară a acizilor aminați și a glucozei

zile) se produce o scădere a calcemiei la valori normale în aproape toate cazurile de hipercalcemie cu excepţia bolnavilor având hiperparatiroidism primar sau terţiar. Mecanismul intim de producere al acestui efect cortizonic acut este încă insuficient elucidat (10,33). Posibilitatea de a doza de rutină PTH a făcut ca testul de supresiune prin steroizi să fie depăşit. Mai utilă este însă evidenţierea unor eliminări urinare masive de C-AMP în caz de hiperparatiroidism.

În principiu, ca strategie generală de diagnostic a unei hipercalcemii, se urmăreşte următoarea abordare: dacă bolnavul este asimptomatic şi există semne de cronicitate a hipercalcemiei, cauza acesteia este aproape sigur hiperparatiroidismul. Dacă nivelul parathormonului este crescut la radioimunodozare, puţine alte investigaţii sunt necesare. Diagnosticul e confirmat prin revenirea la normal a calcemiei după ablaţia chirurgicală a adenomului paratiroidian.

Dacă pacientul nu are simptome clare ci doar un scurt istoric, se poate bănui o neoplazie ocultă. Dacă nivelul parathormonului este crescut, este vorba despre un hiperparatiroidism asimptomatic.

Dacă pacientul prezintă simptome de hipercalcemie iar nivelul parathormonului este normal, diagnosticul orientează spre o neoplazie, caz în care se impun examinări imagistice (radiografie toracică, radiografii osoase, tomografie).

În cazul pacienţilor asimptomatici, cu hipercalcemie cronică şi nivel normal al parathormonului şi la care existenţa unui proces malign nu poate fi evidenţiată, diagnosticul se orientează spre alte afecţiuni, de exemplu sarcoidoza.

7.2.5. BAZELE BIOCHIMICE ALE TERAPIEI ÎN TULBURĂRILE METABOLISMULUI CALCIULUI

În hipocalcemia asimptomatică este suficientă de cele mai multe ori administrarea de vitamină D pe cale orală, stimulându-se astfel absorbţia de calciu din intestin. Deficitul de calciu din oase poate fi remediat în caz de rahitism prin administrarea de vitamină D, iar procesul de remineralizare poate fi urmărit prin nivelul fosfatazei alcaline, care începe să scadă când reacţia osteoblastică a devenit eficientă. Chiar şi o scădere moderată a calciului ionic ar trebui tratată pentru prevenirea cataractei. În schimb, scăderea calciului legat de proteine nu va fi tratată.

Hipocalcemiile severe din hipoparatiroidism pot fi influenţate de vitamina D şi mai ales de dihidrotahisterol care a înlocuit pe plan terapeutic hormonul paratiroidian.

În caz de tetanie hipocalcemia trebuie tratată ca o urgenţă, administrându-se intravenos calciu.

Tratamentul hipercalcemiei. Atunci când nivelul calcemiei este sub 7,5 mEq/l (3,75 mmoli/l) terapia nu are caracter de urgenţă. Pe cât posibil se va aplica tratament cauzal (de exemplu ablaţia chirurgicală a adenomului paratiroidian).

Măsurile de corectare a hipercalcemiei includ hiperhidratarea, provocarea diurezei, administrarea orală de fosfat de sodiu, ceea ce duce la precipitarea fosfatului de calciu în intestin (se administrează 100-300 ml/zi dintr-o soluţie conţinând 45g Na_2HPO_4/l sau 56 g K_2HPO_4/l).

Atunci când calcemia atinge sau depăşeşte 7,5 mEq/l se vor lua măsuri de urgenţă care urmăresc să prevină pericolul stopului cardiac. Se pot efectua perfuzii intravenoase cu EDTA (un agent chelator de calciu), sau perfuzii cu fosfaţi de sodiu şi de potasiu. De notat că această terapie poate duce la precipitarea calciului la nivelul rinichiului, afectând funcţia acestuia. În cazurile extreme se recurge la dializă extracorporală.

7.3. METABOLISMUL FOSFORULUI

Fosforul este un element abundent în organism. Un adult de 70 kg conține aproximativ 700 g de fosfor. Circa 80% din această cantitate este cantonată în schelet sub formă de hidroxiapatită. Restul fosfaților se găsesc în țesuturile moi și în lichidul extracelular. Fosforul este în mare parte combinat cu lipide, proteine și hidrați de carbon, participând la formarea fosfolipidelor, nucleotidelor, acizilor nucleici, a compușilor macroergici. De asemenea, fosfații constituie unul din sistemele tampon ale organismului.

Majoritatea fosforului din fluidul extracelular este anorganic, găsindu-se sub două forme: HPO_4^{--} și $H_2PO_4^-$. La pH-ul fiziologic al sângelui, raportul între HPO_4^{--} și $H_2PO_4^-$ este de 4:1. Ținându-se cont de greutatea atomică a P și luând în considerare valențele celor două forme de fosfați, se poate calcula concentrația fosforului seric în mEq/l:

$$\text{mEq P/l} = 10\,(0{,}8 \times 2/31) + 10\,(0{,}2 \times 1/31) \times \text{mg P/100 ml},$$

sau după simplificări:

$$\text{mEq P/l} = 0{,}58 \times \text{mg P/dl}.$$

Deoarece concentrația relativă a celor două specii de fosfați variază cu pH-ul, se recomandă exprimarea fosforului seric în mg/dl sau în mmoli/l (în acest caz se înmulțește valoarea fosfaților anorganici în mg/dl cu 10 pentru a raporta la un litru și se împarte la 31, masa fosforului).

La indivizi sănătoși, fosforul seric variază în limite destul de largi: 2,5-4,7 mg/dl, respectiv 0,8-1,51 mmoli/l (16). Copiii în creștere au nivele mai crescute ale fosforului (4-7 mg/dl sau 1,3-2,25) mmoli/l).

Ingestia alimentelor cu conținut ridicat de fosfor poate să crească concentrația fosforului plasmatic, în timp ce o dietă bogată în carbohidrați poate scădea fosfatemia. La femei valoarea fosfatemiei este scăzută în cursul menstruației.

La menținerea homeostazei fosforului concură intestinul subțire, rinichiul și scheletul - care constituie un rezervor de stocare.

Fosforul este prezent practic în toate alimentele, deci în principiu carența alimentară poate fi exclusă. Aportul alimentar zilnic de fosfor trebuie să fie de 800-1000 mg pentru un adult, majoritatea provenind din lapte și produse lactate. În sarcină și lactație necesarul de fosfați crește cu 50%.

Aproximativ 2/3 din fosforul ingerat este absorbit din jejun printr-un proces activ energodependent. Absorbția intestinală a fosfaților este diminuată în caz de sindroame malabsorbtive intestinale, boli hepatice, precum și în intoxicația cu metale grele, terapia cu antiacide neresorbabile și aportul alimentar crescut de fitați. Absorbția este crescută în cazul unei diete sărace în calciu, iar vitamina D și hormonul de creștere au același efect. Acțiunea parathormonului asupra absorbției intestinale de fosfat se exercită probabil indirect, prin efectul său asupra vitaminei D. Fosfatul neabsorbit din intestin se elimină prin materiile fecale.

Fosfatul este o substanță cu prag: astfel atunci când concentrația sa plasmatică este în mod constant sub 1 mmol/l, acesta nu se elimină prin urină decât în caz de perturbare patologică a reabsorbției tubulare. Peste această concentrație rata excreției de fosfat este proporțională cu creșterea valorii plasmatice (15). În general, 80-95% din fosfatul filtrat la nivelul glomerulilor este reabsorbit, iar hormonul paratiroidian stimulează eliminarea renală a fosfaților, reducând reabsorbția lor. La normali, fosfaturia oscilează între 0.9-1.3g/24 ore (29-42 mmoli/zi) fiind mult influențată de conținutul în fosfați al alimentației.

Creşterea fosfaturiei se constată în hiperparatiroidism, deficit de vitamină D, acidoză tubulară renală, sindrom Fanconi, precum şi după diuretice.

Scăderea fosfaturiei survine în hipoparatiroidism, pseudohipoparatiroidism şi în intoxicaţia cu vitamină D.

Hipofosfatemia, adică scăderea fosfaţilor serici sub 0,8 mmoli/l, poate surveni în hiperparatiroidism, rahitism, sindrom Fanconi precum şi în cazul administrării parenterale de lichide lipsite de fosfaţi şi în special în urma perfuzării intravenoase de mari cantităţi de glucoză.

Terapia comei diabetice, în care alături de glucoză şi bicarbonaţi se administrează şi insulină, creează condiţii propice instalării hipofosfatemiei. În aceste situaţii se produce pe de o parte pierderea urinară a fosfaţilor, iar pe de o altă parte are loc o deplasare bruscă a acestora şi a glucozei din lichidul extracelular spre lichidul intracelular, unde contribuie la formarea glucozo-6 fosfatului.

Depleţia de fosfaţi poate surveni şi în cazul vărsăturilor cronice, după aspiraţii gastrice prelungite sau după tratament de durată cu preparate antiacide care fixează fosfaţii din intestin sub o formă nercsorbabilă.

Alcoolismul acut şi cronic precum şi terapia de durată cu diuretice se pot însoţi de asemenea de o spoliere a fosfaţilor din organism.

O scădere a fosfaţilor serici este deseori întâlnită în cursul bolilor cronice caşectizante, în stări de denutriţie gravă (28) şi, în mod surprinzător, la obezi (20). În acestă ultimă situaţie se poate presupune că hiperinsulinismul caracteristic obezităţii favorizează deplasarea rapidă a glucozei şi fosfaţilor din plasmă în lichidul intracelular şi în special în celulele adipoase hipertrofiate, fiind vorba mai degrabă de o modificare a repartizării fosfaţilor decât de o depleţie efectivă în fosfaţi. Perturbările digestive (insuficienţă pancreatică, boala Crohn, fistule intestinale, colestaza) conducând la malabsorbţia calciului şi a vitaminei D determină o hipersecreţie de parathormon care antrenează pierderi renale de fosfaţi.

Deficitul sever de fosfaţi se traduce pe plan clinic prin astenie musculară, parestezii, hiporeflexie, tremor, ataxie. În unele cazuri, suferinţa celulelor musculare, sărăcite în compuşi macroergici poate ajunge până la liza miofibrilelor, cu creşterea consecutivă în ser a CPK (28).

O consecinţă importantă a deficitului de fosfaţi este perturbarea funcţionalităţii elementelor figurate sanguine. Astfel, se remarcă o scădere a chemotaxiei şi a capacităţii fagocitare a polimorfonuclearelor, ceea ce predispune la apariţia infecţiilor. Retracţia cheagului este deficitară, iar plăcuţele sanguine au o durată de viaţă scăzută. Hematiile prezintă o fragilitate crescută, apărând o tendinţă la anemie hemolitică. Scăderea fosfaţilor din eritrocite duce la o diminuare a formării de 2,3 difosfoglicerat, cu deplasarea la stânga a curbei de disociere a hemoglobinei, respectiv perturbarea eliberării oxigenului fixat pe hemoglobină. În acest mod se ajunge la o hipoxie tisulară în prezenţa unei saturaţii în oxigen relativ bune a sângelui. Este evident că o astfel de anomalie afectează mult starea pacienţilor cu suferinţe cardiace sau pulmonare sau care prezintă anemie (28).

Terapia hipofosfatemiilor constă în administrarea fracţionată pe cale orală a unui sirop cu conţinut de fosfaţi, echivalând cu 1 g de fosfor. De menţionat că un litru de lapte conţine aproximativ 1 g de fosfor. În cazul alimentaţiei parenterale se va administra intravenos 20-25 mEq fosfat monopotasic pentru fiecare 1000 kilocalorii furnizate de substanţele nutritive primite parenteral (34).

Hiperfosfatemia survine în hipoparatiroidism, hipervitaminoză D, sarcoidoză şi insuficienţă renală (vezi tabelul 7.1).

7.4. METABOLISMUL MAGNEZIULUI

Un adult de 70 kg conține aproximativ 24 g de magneziu (24). Magneziul este distribuit inegal în organism, având o concentrație mai mare în țesuturile cu activitate metabolică mai intensă, cum ar fi creierul, inima, ficatul, rinichii, tiroida. Aproximativ 60% din magneziul total este cantonat în schelet, o treime din acesta fiind apt de a se mobiliza și funcționând ca un rezervor pentru menținerea magneziemiei în condiții de aport redus sau utilizare crescută; 35% din magneziu se găsește în mușchii scheletici și miocard. Aproximativ 1% din magneziul total se găsește în compartimentul extracelular - din care circa 35% este legat de albumine, restul fiind sub formă ionizantă.

Concentrația magneziului seric este de 1,92-2,3 mg/dl (24), respectiv 0,8-0,94 mmoli/l sau 1,6-1,9 mEq/l.

7.4.1. DATE PRIVIND FIZIOLOGIA MAGNEZIULUI

Principalele organe implicate în metabolismul magneziului sunt intestinul și rinichii. O mică cantitate de magneziu participă la procesele de remaniere osoasă (depunere/resorbție).

Cantitatea de magneziu ingerată zilnic este de 200-350 mg și provine în special din verdețuri, pește, carne. La copii, necesarul de magneziu este de 10-20 mg/kg/zi (24,26). Se recomandă un aport suplimentar de magneziu la gravide, precum și la vârstnici - caz în care absorbția intestinala este redusă și eliminarea renală crescută.

Aproximativ 30-50% din magneziul ingerat este absorbit la nivelul intestinului prin mecanism de absorbție facilitată și pasivă. Vitamina D și forma ei activă (1,25 dihidrocolecalciferolul) cresc absorbția magneziului, dar într-un grad mai mic decât pe cea a calciului (26). În cazul unei diete conținând multe fibre, fitați și grăsimi saturate, absorbția este mult diminuată (32). De notat că alcoolul crește eliminările urinare de magneziu.

Absorbția magneziului este deficitară în diaree, steatoree, rezecții intestinale, enteropatie de iradiere și diabet. Flora intestinală influențează negativ absorbția de magneziu.

O verigă importantă în reglarea magneziului este situată la nivel renal (vezi fig. 7.3). În condiții normale rinichiul filtrează circa 2,5 g magneziu, din care reabsoarbe 95%, excretând 100 mg pe zi. În condițiile deprivării de magneziu, rinichiul tinde să-l conserve, excreția sa scăzând 12 mg pe zi. Deși metabolismul magneziului este strict controlat, nu s-a descris încă un hormon sau factor specific care să regleze homeostazia acestui cation. Totuși, mai mulți hormoni intervin în menținerea magneziului, influențând fie absorbția acestui cation, fie, mai ales, intervenind în controlul eliminării la nivel renal. Parathormonul (PTH) facilitează absorbția intestinală și crește reabsorbția tubulară de magneziu. În cazul hipercalcemiei, inhibiția secreției de PTH duce la creșterea magneziuriei. În hipertiroidism magneziemia este scăzută pe când în hipotiroidism ea tinde să crească, datorită diminuării eliminărilor urinare. Glucocorticoizii antrenează creșterea eliminării renale de calciu și magneziu, pe seama mobilizării rezervelor osoase. Aldosteronul intervine de asemenea în reglarea magneziului; s-a semnalat o interrelație între metabolismul magneziului și cel al potasiului, iar hiperpaldosteronismul duce la scăderea ambilor cationi. Totodată, deficitul de magneziu reduce capacitatea celulelor de a menține un gradient de potasiu, ceea ce duce la o depleție celulară de potasiu (24). Acest efect este similar cu ceea ce se întâmplă în cursul tratamentului digitalic și explică de ce deficitul de magneziu crește toxicitatea digitalicelor. Pe de altă parte, rinichiul nu poate conserva potasiul când există un deficit de magneziu, ceea ce conduce la hipokaliemie. În reglarea magneziului un rol important îl joacă și sistemul adrenergic. Deficitul de magneziu se însoțește

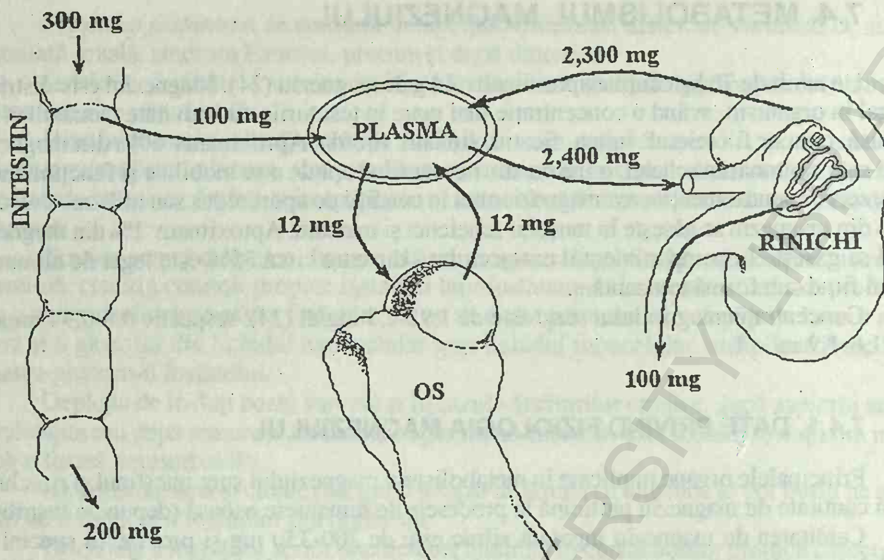


Fig. 7.3. Metabolismul magneziului. Aproximativ 40% din magneziul ingerat este absorbit; rinichiul filtrează 2,5 g, excretând 100 mg/zi pentru a menţine balanţa. O mică cantitate de magneziu este folosită de către os participând la sinteza şi resorbţia osoasă.

Tabel 7.3.

A. Substrate enzimatice (ATP Mg, GTP Mg)
1. Kinaze (hexokinază, creatinkinază, proteinkinază)
2. ATPază sau GTPază (Na, K, ATPază, CA ATPază)
3. Ciclaze (adenilat ciclază, guanilat ciclază)

B. Activare directă a enzimelor
1. Fosfofructokinază
2. Creatinkinază
3. 5-Fosforibozil pirofosfat sintetază
4. Adenilat ciclază
5. Na, K, ATPază

C. Influenţa asupra proprietăţilor membranare
1. Conducerea influxului nervos
2. Modularea canalelor de calciu
3. Transport ionic

Rolul fiziologic al magneziului. Magneziul are rol cheie în numeroase funcţii mediate enzimatic. Magneziul este implicat în formarea substratelor enzimatice precum şi în activarea directă a enzimelor. Funcţiile membranare care sunt influenţate de magneziu includ conducerea impulsului nervos şi modularea activităţii canalelor de calciu.

de hiperproducţie de adrenalină, iar excesul de catecolamine accentuează la rândul său acest deficit.

Magneziul este implicat într-o gamă largă de reacţii biochimice, având rol activator direct asupra unor enzime cum ar fi fosfofructokinaza, creatinkinaza, adenilatciclaza. El intervine în sinteza, transportul şi utilizarea compuşilor macroergici, în special a adenozintrifosfatului (ATP). În mitocondrii magneziul asigură cuplarea fosforilării cu oxidarea în producerea de ATP. Magneziul participă la sinteza de acizi nucleici şi în sintezele proteice, intervenind în procesul de activare a acizilor aminaţi, respectiv de formare a complexelor aminoacid-AMP care se fixează pe acidul ribonucleic de transfer.

Magneziul are un rol stabilizator asupra membranei celulare precum şi asupra ribozomilor şi lizozomilor, în deficitul de magneziu degranularea mastocitelor şi bazofilelor fiind accentuată (31).

Este cunoscută importanţa magneziului pentru reglarea contracţiei musculare şi conducerea influxului nervos.

Prin efectul său asupra membranei celulare, magneziul intervine în transferul ionic (în special al potasiului) şi modulează activitatea canalelor de calciu.

Rolul fiziologic al magneziului este prezentat schematic în tabelul 7.3.

7.4.2. MODIFICĂRILE PATOLOGICE ALE METABOLISMULUI MAGNEZIULUI

În practica medicală **deficitul de magneziu** este întâlnit relativ frecvent. Cu toate acestea, el nu este întotdeauna identificat pe de o parte deoarece are o expresie clinică mai puţin specifică comparativ cu carenţa altor elemente (cum ar fi fierul), iar pe de altă parte pentru că deficitul de magneziu apare de obicei într-un context clinic complex în asociere cu alte afecţiuni care pot domina tabloul clinic. În principiu, deficitul de magneziu poate apare ca urmare a unui aport insuficient sau a unor pierderi excesive, sau prin combinarea celor două mecanisme.

Aportul deficitar se constată mai ales în cazul alimentaţiei parenterale, situaţie în care intervine şi creşterea eliminărilor urinare, determinată de administrarea soluţiilor glucozate. Curele de slăbire drastice sunt în general însoţite de instalarea unei hipomagneziemii.

Alcoolismul cronic se asociază frecvent cu carenţa de magneziu. La aceasta contribuie raţia alimentară dezechilibrată, cu conţinut scăzut de magneziu, eliminarea crescută a magneziului prin urină (etanolul antrenând o diureză osmotică) şi pierderea sa prin vărsături, hipersudoraţie (fazele avansate de delirium tremens sau sevraj) (21,28,32). De asemenea malabsorbţia şi carenţa de vitamina B_6, care contribuie la menţinerea nivelului intracelular de magneziu, constituie factori adjuvanţi ai hipomagneziemiei la alcoolici. În etilism, deficitul de magneziu intervine în apariţia tulburărilor neuromusculare şi posibil în instalarea fenomenului de dependenţă.

În afecţiunile evoluând cu malabsorbţie (rezecţii intestinale, enteropatii acute sau cronice, diarei, steatoree) apare un deficit de magneziu care la rândul său poate agrava manifestările clinice ale carenţei unor vitamine (B_1, B_6, B_{12} şi acid folic), strâns legate de metabolismul magneziului.

În hiperaldosteronismul primar sau cel secundar (28,35) al bolnavilor cu insuficienţă cardiacă alături de instalarea unei hipokaliemii apare şi hipomagneziemie.

Terapia cu diuretice (în special tiazidice) provoacă o depleţie de magneziu. Astfel, la pacienţii cu insuficienţă cardiacă prezentând hiperaldosteronism secundar şi trataţi cu

diuretice, hipokaliemia şi hipomagneziemia care se instalează pot explica apariţia aritmiilor şi a manifestărilor toxice digitalice (35).

Deficitul de magneziu survine relativ frecvent în practica pediatrică (23,24). Apariţia deficitului de magneziu în prima copilărie se datorează următoarelor particularităţi ale acestei vârste:

1) disgravidia poate duce la o sărăcire în magneziu a organismului matern cu repercusiuni asupra capitalului de magneziu al nou-născutului;

2) creşterea rapidă a copilului în primele luni de la naştere, respectiv sinteza accelerată de proteine caracteristică acestei perioade, implică necesităţi sporite de magneziu, cation ce intervine în reglarea sintezei proteice;

3) laptele este sărac în magneziu;

4) tulburările gastrointestinale relativ frecvente la această vârstă pot precipita o hipomagneziemie, mai ales dacă se administrează copilului perfuzii cu lichide lipsite de magneziu;

5) terapia cu calciu şi vitamina D în doze mari favorizează pierderile urinare de magneziu.

Este interesant de notat faptul că după ablaţia chirurgicală a unui adenom paratiroidian se dezvoltă adesea fenomene de tetanie care nu cedează la calciu dar sunt bine influenţate la administrarea de magneziu. Se bănuieşte că în astfel de cazuri hiperparatiroidismul de durată a produs o depleţie a rezervelor de magneziu, care s-au mobilizat din oase sub acţiunea parathormonului, împreună cu calciul şi fosfaţii fiind apoi eliminat prin urină. Este posibil ca în hiperparatiroidismul secundar, care survine în rahitism, să se producă acelaşi fenomen de sărăcire în magneziu.

Încetarea bruscă a hiperparatiroidismului secundar, ca urmare a administrării de vitamină D, poate să favorizeze apariţia tetaniei şi prin intermediul deficitului de magneziu instalat între timp. Se pare că manifestările de tetanie din deficitul de magneziu sunt şi ele favorizate de alcaloză.

În diabetul zaharat apare o hipomagneziemie datorită pierderilor urinare de magneziu antrenate de diureza osmotică. Hipomagneziemia este deci şi un indicator al controlului deficitar al glicemiei la pacienţii diabetici, nivelul scăzut al magneziului corelându-se cu nivelul crescut de hemoglobină glicozilată (26).

Stresul psihic şi/sau fizic creşte necesarul de magneziu şi poate accentua pierderile de magneziu celular. Între cele două fenomene există o condiţionare reciprocă: astfel, hipomagneziemia creşte sinteza de catecolamine, care la rândul său determină mobilizarea magneziului celular, în special din miocard (27).

Sunt interesante pentru practica clinică o serie de observaţii care stabilesc relaţii între deficitul de magneziu şi ateroscleroză. Studii experimentale au demonstrat apariţia leziunilor histologice la nivelul arterelor mijlocii şi mici la animalele a căror dietă conţinea cantităţi scăzute de magneziu. În condiţiile asocierii excesului de grăsimi saturate se constată apariţia leziunilor aterosclerotice, a căror intensitate este mai mare decât a celor apărute în prezenţa unui aport adecvat de magneziu (32).

O serie de studii citate de Zeană în monografia sa (32) arată că, prin rolul său stabilizator asupra membranelor fosfolipidice, magneziul ar conferi o anumită protecţie celulelor endoteliale faţă de stresul hemodinamic. De asemenea deficitul de magneziu ar produce o încetinire a captării şi internalizării particulelor de LDL de către receptorii celulelor hepatice.

Au fost descrise cazuri de hipomagneziemie evoluând cu hiperexcitabilitate neuromusculară şi boală tromboembolică (11). De fapt magneziul intervine în dezagregarea plăcuţelor sanguine, dar nu există suficiente argumente pentru stabilirea unei legături între deficitul de magneziu şi tromboze.

Manifestările clinice ale deficitului de magneziu sunt extrem de polimorfe şi relativ nespecifice. Alături de simptome generale, cum ar fi insomnia, anxietatea, depresia, cefaleea, bolnavii prezintă slăbiciune musculară, crampe, parestezii, hiperreflexie, dificultăţi la înghiţire, senzaţie de constricţie toracică, tulburări de adaptare a vederii. Pot apare şi alte manifestări: palpitaţii, constipaţie, dismenoree, tulburări trofice ale fanerelor.

Recunoaşterea deficitului de magneziu este îngreunată de faptul că nivelul magneziului seric nu reflectă în mod fidel capitalul de magneziu al organismului. Evidenţierea unei concentraţii mult scăzute a magneziului seric confirmă diagnosticul, dar un nivel normal al acestui cation nu exclude cu certitudine deficitul de magneziu. Măsurarea magneziului muscular este dificilă şi nu aduce un aport diagnostic mult mai substanţial. Se discută valoarea determinării magneziului eritrocitar, care în mod normal este de 4-6 mEq/l (2-3 moli/l), scăzând în multe cazuri cu deficit sever de magneziu până la valori sub 2,5 mEq/l (1,25 mmoli/l).

Deoarece conţinutul în magneziu al organismului este în mare parte reglat de controlul la nivel renal al excreţiei, scăderea magneziuriei sub valorile de 25 mg/24 ore (2,1 mEq) la un adult sau sub 1 mg/kg corp/24 de ore la sugari şi copii, denotă un răspuns compensator al rinichiului la deficitul de magneziu. S-au imaginat pe această bază teste de magneziurie provocată, arătându-se că, în mod normal, dintr-o doză intravenoasă de 6 mg de Mg pe kg corp, mai mult de 80% se elimină prin urină în 24 de ore, în timp ce în deficitul de magneziu există o tendinţă de retenţie a acestuia şi de reducere a eliminărilor urinare (35).

Diagnosticul deficitului de magneziu este completat de explorări electrofiziologice, cum ar fi electromiograma, electronistagmograma şi electroencefalograma, care indică de regulă o stare de hiperexcitabilitate (23).

Amendarea spectaculară a manifestărilor clinice şi electrice după administrarea sărurilor de magneziu constituie un alt argument pentru diagnosticul deficitului de magneziu (32). De menţionat că administrarea de calciu agravează manifestările clinice din hipomagneziemie (28,35).

Deficitul de magneziu necesită tratament de durată cu preparate orale de magneziu (3 x 1 g lactat de Mg). În formele mai severe, un efect benefic îl are asocierea vitaminei B_6 care favorizează creşterea concentraţiei intracelulare de magneziu (32).

La bolnavii în stare critică se recomandă administrarea intravenoasă lentă a 2-4 g $MgSO_4$ în soluţie glucozată. La sugari şi copii se administrează $MgSO_4$ 20% în doză de 0,4 ml/kg corp pe zi.

De o deosebită importanţă teoretică şi practică este observaţia că, în unele denutriţii grave ale copiilor, refacerea metabolismului proteic este net accelerată dacă se administrează şi săruri de magneziu (21).

O contraindicaţie a administrării de magneziu o constiuie miastenia gravis, unde există riscul paraliziei muşchilor respiratori.

Supraîncărcarea cu magneziu poate surveni la nou-născuţi ai căror mame au fost tratate cu sulfat de magneziu în contextul eclampsiei, şi în insuficienţa renală unde este perturbată eliminarea urinară de magneziu.

Simptomele hipermagneziemiei sunt: hipotensiune, greţuri, vărsături, bradicardie, hiporeflexie osteotendinoasă, hipotonie musculară, culminând cu paralizia muşchilor respiratori.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1.Albright F. and Reifenstein H.Cr.Jr. The parathyroid glands and metabolic bone disease. Ed.Williams and EWilkins Comp., Baltimore, 1950.

2.Avioli L.V., Krone S.M. Metabolic Bone Disease and Clinically Related Disorders, in W.B. Saunders Comp. Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo, 1980.

3.Avram M.M., Feinfeld D.D., Huatuco A.H. Search for the uremic toxin. Decreased motor nerve velocity and elevated parathyroid hormone in uremia, the New Engl.J.Med., 1978, 298: 1000-1003.

4.Barter F.C. Hypophosphatasia, in Stanbury J.B., Wyngaarden J. and Friedrickson D.S., The Metabolic Basis of Inherited Disease, Ed.McGraww Hill, New York, 1972.

5.Brannon P.G., Vergue Marini P., Pak C.Y.K., Hull A.R., Fordtran J.S. Magnesium absorbtion in the human small intestine; results in normal subjects, patients with chronic disease and patients with absorbtive hypercalciuria. J.Clin.Invest., 1976, 57: 1412-1418.

6.Chase L.R., Auerbach G.D. Parathyroid function and the renal excretion of 3-5 adenylic acid. Proc.Nat.Acad.Sci.Usa, 1967, 58: 518-525.

7.Chase L.R., Melison G.L., Auerbach G.D. Pseudohypoparathyroidism: defective excretion of 3'-5' AMP in response to parathyroid hormone, J.Clin.Invest, 1969, 48, 1832-1844.

8.Cooper C.W., Schwwsinger W.H., Mahgoub A.M., Ontjes D.A. Thyrocalcitonin; stimulation of secretion by pentagastrin, Science, 1971, 172: 1238-1240.

9.De Luca H.F. The metabolism physiology and function of vitamin D. In Kumar R (ed), Vitamin D. Basic and Clinical Aspects, Boston, The Hague, Nijhoff, 1984.

10.Dent C.E., Watson L. The hydrocortison test in primary and tertiary hyperparathyroidism, Lancet, 1968, 2: 662-664.

11.Dupont B., Pony J.C., Bihan G. le, Leborgne P. Maladie Phlebothrombosante et Magnesium, Sem.Hop.Paris, 1969, 48: 3048-3054.

12.Fourman P., Royer P. Calcium Metabolism and the Bone, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1968.

13. Gozariu L., Florescu O. Calcitonic and glucose uptake by isolated rat diafragm, Horm.Metab.Res., 1973, 5: 145.

14.Gozariu L., Dascălu Rodica Calciul în organismul uman, Editura Dacia, Cluj-Napoca, 1975.

15.Guyton J.F. Textbook of Medical Psisiology, in W.B. Saunders Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo, 1991.

16.Henry J.B. Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods, in W.B. Saunders Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo, 1991.

17.Hoffman W.S. The Biochemistry of Clinical Medicine. Year Book Medical Publisher Inc. Chicago, 1970.

18. Klein L., Curtiss P.H. Urinary hydroxiproline as an idex of bone metabolism, in Pearson H.o., Joplin G.F., Dinamic Studies of metabolic Bone Disease, ed. Blackwell, Oxford, 1964.

19.Krane S.M., Munioz A.J., Harris E.D.Jr. Collagen-like fragments; Excretion in urine of patients with Paget's disease of bone. Science, 1967, 157: 713-716.

20.Lindgarde F., Trell E. Serum inorganic phosphate in middle-aged men. Inverse relation to body weight, Acta Med.Scand, 1977, 202: 307-311.

21.Livingston D.M., Wacker W.E.C. Le role du magnesium en physiologie neuromusculaire, in Metabolisme de l'eau et des éléctrolytes, Triangle, 1971, 10: 169-172.

22.Manneli M. Diagnostic problems in pheochromocytoma, J.Clin.Invest., 1989, 12: 739-757.

23.Miu N. Magneziul în patologia copilului. Teză de doctorat UMF Cluj-Napoca, 1973.

24.Miu N., Mărgineanu O., Martinecz V. Tratamentul cu magneziu în unele sindroame produse prin deficit de magneziu. Viața Medicală, 1972, 19: 657-658.

25.Mundy G.R. The hypercalcemia of malignancy revisited. J.Clin.Invest., 1988, 82: 1-6.

26.Rude R. Physiology of magnesium metabolism and the important role of magnesium in potassium deficiency, Am.J.Cardiol.1989, 83: 31-34.

27.Seeling M. Cardiovascular consequences of magnesium deficiency and loss. Pathogenesis, prevalence and manifestations; magnesium and chloride loss in refractory potassium repletion. Am.J.Cardiol., 1989, 83: 4-19.
28.Studer H. Wenig beobachtete Ionen: Magnesium und Phosphor, Schweiz.med.Wschr., 1978, 108: 434-437.
29.Sunderman F.W., Sunderman F.W.,Jr. Evaluation of Thyroid and Parathyroid Function. Ed.J.B.Lippincott Company, Philadelphia, Montreal, 1963.
30.Wasserman R.H., Taylor A.N. Vitamin D induced calcium binding protein in chick intestinal mucosa, Science, 1966, 152, 791.
31.Winegard S. Calcium and striated muscle, in Colmar C.L., Bronner T.,Mineral Metabolism, Ed.Academic Press, New York, 1969.
32.Zeană C. Magneziul - biologie, clinică, tratament. Ed.Enciclopedică, Bucureşti, 1994.
33.Zilva J.F., Pannal P.R. Clinical Chemistry in diagnosis and Treatment, Lloyd-Luke Medical Booke, London, 1972.
34.*** Hypophosphatemia-Leading article, Lancet, 1977, II, 122-123.
35.*** Magensium deficiency - Leading article, Lancet, 1976, I, 523-534.

ÎNTREBĂRI DE CONTROL

1. Secreţia de hormon paratiroidian este stimulată de:
A. Scăderea calcemiei
B. Scăderea fosfaţilor serici
C. Ambele procese
D. Nici unul.

2. Creşterea fosfatazei alcaline în ser sugerează:
A. O hiperexcitabilitate neuromusculară
B. Un deficit al matricii proteice a osului
C. O reacţie osteoblastică
D. O afecţiune a măduvei osoase.

3. Calcitonina este:
A. Un hormon care scade nivelul calcemiei
B. O enzimă care scindează esterii organici ai acidului fosforic
C. Un complex fosfocalcic ce se depune în oase
D. O proteină care favorizează transportul calciului prin mucoasa intestinală.

4. Stabiliţi corespondenţa între modificările umorale de mai jos şi starea patologică pe care le sugerează:

A. Calciu seric 10 mg/dl (5 mEq/l) fosfaţi serici 4 mg/dl (1,29 mmoli/l)

B. Calciu seric 6 mg/dl (3mEq/l) fosfaţi serici 8 mg/dl (2,58 mmoli/l)

C. Calciu seric 14 mg/dl (7 mEq/l) fosfaţi serici 2 mg/dl (0,65 mmoli/l)

D. Calciu seric 8,5 mg/dl (4,25 mEq/l) fosfaţi serici 2,6 mg/dl (0,84 mmoli/l) (în cazul unui copil de 2 ani)

I. Hipoparatiroidism

II. Normal

III. Hiperparatiroidism primar sau terţiar

IV. Deficit de vitamina D (rahitism)

5. Modificările calcemiei şi fosfatemiei din hiperparatiroidismul primar pot fi mascate de:
A. Fracturi osoase
B. Insuficienţă renală
C. Ambele procese
D. Nici unul

6. Pericolul major în caz de hipercalcemie peste 15 mg/dl este:
A. Oprirea inimii
B. Insuficienţă renală
C. Hipotonia musculaturii intestinale

7. În hiperparatiroidismul secundar se întâlneşte frecvent:
A. O creştere a calcemiei
B. O creştere exprimată a fosfatazei alcaline
C. Ambele modificări
D. Nici una

8. Stabiliţi corespondenţa între următoarele semne de laborator şi stările patologice în care pot fi constatate:

A. Eliminare urinară crescută de fosfoetanolamină	I. Sindrom Fanconi
B. Eliminare urinară de fragmente peptidice conţinând hidroxiprolină	II. Boala Paget
C. Pierdere urinară de fosfaţi, acizi aminaţi şi glucoză	III. Hipofosfatazie
D. Nivel crescut de calcitonină şi catecolamine	IV. Sindrom Sipple

9. Scăderea fosfaţilor serici poate fi întâlnită în:
A. Rahitism
B. Boli cronice caşectizante
C. Alimentaţie parenterală cu soluţii glucozate
D. Hipertiroidism.

10. Scăderea magneziului seric poate apare în:
A. Diarei cronice
B. Hiperaldosterronism primar
C. Toate aceste situaţii
D. Nici una.

11. În hiperparatiroidismul primar sau terţiar se constată hipercalcemie şi hipofosfatemie deoarece hormonul paratiroidian (PTH) stimulează eliberarea de calciu şi fosfaţi din oase, facilitând totodată eliminările urinare de fosfaţi.

12. Hipocalcemia determină o hiperexcitabilitate neuromusculară deoarece vitamina D activă (1,25 dihidroxicolecalciferol) favorizează absorbția de calciu și de fosfați din intestin.

13. Calcitonina previne o creștere postprandială excesivă a calcemiei deoarece acest hormon stimulează activitatea osteoclastelor.

14. În deficitul sever de fosfați, oxigenul nu se mai fixează pe hemoglobină deoarece în hipoparatiroidism scad eliminările urinare de fosfați.

15. În alcoolismul cronic se constată o hipermagneziemie deoarece alcoolul reduce eliminările urinare de magneziu.

16. În rahitism se constată o creștere importantă a fosfatazei alcaline deoarece această enzimă determină o eliberare de calciu și de fosfați din oase.

Cheia întrebărilor 11-16:

a. ambele afirmații corecte și legate cauzal
b. ambele afirmații corecte dar nelegate cauzal
c. prima afirmație corectă, a doua incorectă
d. prima afirmație incorectă, a doua corectă
e. ambele afirmații incorecte

8. ANOMALIILE ECHILIBRULUI ACIDO-BAZIC

Reacţiile enzimatice şi implicit procesele biologice depind în mare masură de concentraţia ionilor de hidrogen (H^+) din mediu. De fapt, viaţa este posibilă doar între anumite limite ale acestor concentraţii cuprinse între 2.10^{-8} molar (pH=7,7) şi 1.10^{-7} molar (pH=7,0), iar valori situate între pH 7,35 şi pH 7,45 sunt considerate ca fiind în limite fiziologice în cazul lichidelor extracelulare (1,5,6). Menţinerea între aceste limite a concentraţiei ionilor de hidrogen necesită mecanisme homeostatice deosebit de eficiente. Pentru a exemplifica este suficient de a arăta că în urma proceselor metabolice din organism se produc zilnic 50-100 mmoli de H^+ care trec în cei 15-20 litri de lichid extracelular, iar concentraţia normală a acestor ioni în fluidele extracelulare este de abia 40 nmoli/l (4.10^{-8} molar, respectiv pH 7,4).

8.1. MECANISME IMPLICATE ÎN HOMEOSTAZIA ECHILIBRULUI ACIDO-BAZIC

Pentru a înţelege mecanismele prin care se poate ajunge la perturbarea echilibrului acido-bazic este important de a cunoaşte procesele fiziologice care generează H^+ şi evident procesele prin care aceşti ioni sunt îndepărtaţi din organism.

A. Procese fiziologice care generează H^+

a. Catabolismul incomplet al substanţelor conţinând C, O şi H.

În timp ce prin catabolizarea aerobică completă a acestor substanţe se ajunge la CO_2 şi H_2O, metabolismul anaerob al hidraţilor de carbon implică formarea de acid lactic, iar metabolizarea incompletă a acizilor graşi şi a acizilor aminaţi cetogeni duce la formarea de corpi cetonici. La un subiect normal, efortul fizic produce acid lactic, iar flămânzirea creşte cetogeneza. Aşa cum se va arăta ulterior, ambele aceste procese vor fi mult accentuate în stări patologice.

b. Catabolismul complet al compuşilor organici care conţin şi alţi constituenţi în afară de C, O şi H. Acest aspect se referă la transformarea grupărilor amino în uree şi a grupărilor SH în sulfat. De fapt o dietă bogată în proteine şi mai ales în cele care conţin un procent ridicat de aminoacizi sulfuraţi duce la eliminarea unei urine acide.

B. **Mecanisme care reduc concentraţia de H^+ în lichidul extracelular**

Se recunosc:

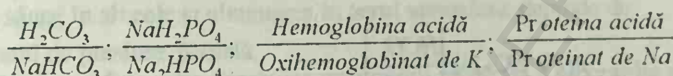
a. mecanisme fizico-chimice, reprezentate de sistemele tampon;

b. mecanisme biologice care implică intervenţia mai multor organe şi ţesuturi dar în care rolurile principale revin plămânilor sub controlul centrului respirator din trunchiul cerebral, precum şi activităţii rinichilor (1,5,6,16).

8.1.1. MECANISMUL DE ACŢIUNE AL SISTEMELOR TAMPON. ECUAŢIA HENDERSON-HASSELBACH. NOŢIUNEA DE PH

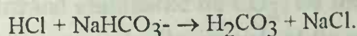
Conform concepţiei moderne, acizii sunt substanţe care cedează H^+, iar bazele sunt compuşi care acceptă cu uşurinţă H^+. Noţiunea de bază nu este identică cu cea de alcalii, prin care se înţeleg substanţele capabile să cedeze hidroxil (OH^-).

O pereche tampon este alcătuită dintr-un acid slab (puţin disociat) şi o sare a acestui acid cu un cation reactiv. Principalele astfel de sisteme tampon de la nivelul sângelui sunt reprezentate de:



$$\frac{H_2CO_3}{NaHCO_3};\ \frac{NaH_2PO_4}{Na_2HPO_4};\ \frac{Hemoglobina\ acidă}{Oxihemoglobinat\ de\ K};\ \frac{Proteina\ acidă}{Proteinat\ de\ Na}$$

Procesul de tamponare constă din înlocuirea unui acid puternic, de către un acid slab, având drept consecinţă menţinerea relativ constantă a ionilor de hidrogen. Un exemplu ilustrativ de tamponare este adaosul de acid clorhidric la sistemul acid carbonic/bicarbonat:



$$HCl + NaHCO_3^- \rightarrow H_2CO_3 + NaCl.$$

În acest fel acidul puternic este transformat într-o sare de sodiu, iar H^+ sunt captaţi de anionul HCO_3^- (bază), formând acid carbonic. Acesta disociază doar în mică masură, gradul de disociere fiind diminuat şi de prezenţa anionilor bicarbonat proveniţi din disocierea sării tampon ($NaHCO_3$). Întrucât în baza legii maselor:

$$\frac{[H_2CO_3]}{[HCO_3^-][H^+]} = K',$$

creşterea concentraţiei de HCO_3^- va deplasa spre stânga sensul reacţiei $H_2CO_3^- \Leftrightarrow HCO_3^- + H^+$, diminuând astfel disocierea acidului carbonic şi eliberarea de H^+. În acest fel "şocul" de H^+ produs de acidul puternic este amortizat de sistemul tampon care captează H^+ sub formă nedisociată în acceptorul de H^+ (baza), care în cazul de faţă este HCO_3^-.

Din ecuaţia de mai sus se poate evalua concentraţia ionilor de hidrogen:

$$[H^+] = K\frac{[H_2CO_3]}{[HCO_3^-]}$$

Întrucât concentrația ionilor de hidrogen $[H^+]$ din lichidele biologice este foarte joasă (de ordinul 10^{-7}) s-a convenit ca măsura acestei concentrații să fie exprimată de o valoare logaritmică. **Noțiunea de pH** poate fi deci definită ca fiind:

a. logaritmul negativ al $[H^+]$ sau

b. ca logaritmul valorii reciproce a $[H^+]$.

De exemplu, dacă $[H^+] = 10^{-7}$ pH = - log 10^{-7}; respectiv pH = 7; sau log $1/10^{-7} = 7$.

Aplicând noțiunile de mai sus la relația:

$$pH = \log\frac{1}{[H^+]} = \log\left(\frac{1}{K}\times\frac{[HCO_3^-]}{[H_2CO_3]}\right)$$

respectiv:

$$pH = \log\frac{1}{K} + \log\frac{[HCO_3^-]}{[H_2CO_3]}$$

Notând log 1/K cu simbolul pK se ajunge la expresia:

$$pH = pK + \log\frac{[HCO_3^-]}{[H_2CO_3]}$$

care reprezintă **ecuația lui Henderson și Hasselbach** și este valabilă pentru orice sistem tampon sub forma generalizată:

$$pH = pK + \log\frac{[A^-]}{[AH]}$$

În cazul tamponului bicarbonat/acid carbonic pK = 6.1; deci:

$$pH = 6\cdot 1 + \log\frac{[HCO_3^-]}{[H_2CO_3]}$$

Atunci când raportul între $[HCO_3^-]$ și $H_2CO_3]$ este 20 și întrucât log 20 = 1.3, pH = 6,1 + 1,3 = 7,4.

Rezultă deci că pentru existența unui pH normal raportul între concentrațiile de bicarbonat și de acid carbonic trebuie să fie 20/1 (de exemplu 24 mEq bicarbonat și 1,2 mEq acid carbonic) ori de câte ori scade numărătorul (bicarbonatul) sau crește numitorul (acidul carbonic) valoarea acestui raport scade și se va ajunge la o deviere spre latura acidă, respectiv o scădere a pH; invers, creșterea bicarbonaților sau scăderea acidului carbonic vor duce la o creștere a pH adică la o deviere spre latura alcalină (1,5,6,16).

De notat că exprimarea logaritmică a concentrației ionilor de hidrogen, sub forma valorilor de pH poate crea o falsă impresie asupra gravității perturbării echilibrului acido-bazic. Astfel o scădere a pH cu doar 0,3 (de exemplu de la pH 7,4 la pH 7,1) indică de fapt o creștere la valori duble ale concentrației ionilor de hidrogen de la 40 nmoli/l la 80 nmoli/l (sau sub altă forma de exprimare de la 4.10^{-8} la 8.10^{-8}).

8.1.2. MECANISME BIOLOGICE DE REGLARE A ECHILIBRULUI ACIDO-BAZIC

Procesul de tamponare nu înseamnă şi o îndepărtare din organism a ionilor de H^+, aceştia rămânând fixaţi de acceptori (baze) sub forma nedisociată. Ca urmare, sistemele tampon constituie doar o măsură temporară, iar acumularea continuă de H^+ poate duce la depăşirea capacităţii de tamponare şi la modificarea bruscă a valorii pH. Organismul posedă însă capacitatea de a transforma H^+ în H_2O sau de a îndepărta H^+ prin rinichi şi în mai mică măsură prin tubul digestiv. De fapt, la procesele complexe de menţinere a echilibrului acido-bazic contribuie toate celulele organismului, un rol particular revenind hematiilor, plămânilor şi rinichilor.

8.1.2.1. ROLUL ERITROCITELOR ŞI PLĂMÂNILOR. TRANSPORTUL DE CO_2 ÎN SÂNGE.

Aproximativ 200 ml CO_2 se elimină prin plămâni în decurs de 1 minut, în condiţiile de repaus şi evident cantităţi mult mai mari se vor elimina în cursul efortului fizic. Difuzarea CO_2 din sânge în alveole şi eliminarea în aerul atmosferic depinde de:

a. gradientul de presiune parţială;
b. amplitudinea şi frecvenţa mişcărilor respiratorii respectiv a procesului de ventilaţie;
c. tensiunea superficială de la nivelul alveolelor pulmonare, reducerea acestei tensiuni fiind asigurată de surfactantul pulmonar fosfolipidic.

Presiunea parţială a CO_2 (PCO_2) este de 46 mm Hg în sângele venos, 40 mm Hg în aerul alveolar şi de abia 0,3 mm Hg în aerul atmosferic, aceste gradiente de presiune parţială favorizând eliminările de CO_2. De menţionat că sistemul internaţional (SI) recomandă ca exprimarea presiunilor parţiale să fie sub formă de "pascali" (Pa): 1 mm Hg = 133,3224 Pa, astfel încât pentru transformare dintr-o formă de exprimare în alta, mm Hg x 0,1333 = kPa, iar kPa x 7,5 = mm Hg.

Conform SI presiunea parţială a CO_2 (PCO_2) în aerul alveolar (şi în sângele arterial) ar fi de 5,3 kPa. Majoritatea laboratoarelor utilizează însă în continuare vechea formă de exprimare sub formă de mm Hg.

Ventilaţia, respectiv procesul mecanic de mişcare a aerului spre plămâni şi în afara acestora, asigură frecvenţa cu care se fac schimburile gazoase, iar mişcările respiratorii se află sub controlul centrului respirator din trunchiul cerebral. Acest centru răspunde prin amplificarea impulsurilor în caz de creştere a PCO_2 şi respectiv a scăderii pH în plasma şi lichidul cerebro-spinal. Amplificarea mişcărilor respiratorii are loc şi în caz de scădere a PO_2, organismul fiind dotat cu receptori sensibili la hipoxie.

Surfactantul pulmonar este un compus cu structură fosfolipidică şi efect tensioactiv, care tapetează peretele alveolelor sub forma unei fine pelicule şi are rol de prevenire a colabării pereţilor alveolari, favorizând totodată schimburile gazoase.

Pentru ca CO_2, produs prin procese de catabolism la nivelul ţesuturilor, să ajungă în plămâni este nevoie de **asigurarea unui transport deosebit de eficient prin sânge**, iar hematiile joacă un rol esenţial în acest proces.

Transportul de CO_2 prin sânge se realizează sub 3 forme diferite:

1. o mică catitate de CO_2 se găseşte dizolvată în sânge putânt trece în acid carbonic conform reacţiei $CO_2 + H_2O \Leftrightarrow H_2CO_3$;
cantitatea de CO_2 dizolvat nu trece de 2,7-3 ml/100 ml sânge (respectiv 1,2-1,3 mmoli/l);
2. o cantitate similară de CO_2 se găseşte sub formă combinată cu proteinele şi în special cu hemoglobina sub formă de compuşi carbaminici $HbNH_2 + CO_2 \rightarrow HbNHCOOH$;
3. principala formă de transport este însă sub formă de bicarbonaţi în combinaţie cu cationii de sodiu şi de potasiu (aproximativ 24 mmoli bicarbonat/l sânge).

Deşi plasma conţine mai bine de două treimi din cantitatea totală de CO_2 a sângelui, eritrocitele joacă un rol esenţial în acest transport datorită:
a. conţinutului în anhidrază carbonică;
b. prezenţei hemoglobinei şi diferenţelor în privinţa gradului de disociere între hemoglobina redusă şi oxihemoglobină;
c. particularităţilor membranei eritrocitelor care în condiţii normale este permeabilă penru H^+, CO_2, HCO_3^-, Cl^- şi H_2O şi practic impermeabilă pentru Na^+ şi K^+.

Anhidraza carbonică catalizează reacţia reversibilă de formare a acidului carbonic din CO_2 şi H_2O iar acidul carbonic, format astfel poate apoi disocia, punând în libertate H^+ şi HCO_3^-.



$$CO_2 + H_2O \Leftrightarrow H_2CO_3 \Leftrightarrow H^+ + HCO_3^-$$

Reacţia arătată mai sus poate avea loc şi spontan, dar anhidraza carbonică o accelerează de peste 100 de ori. De notat că activitatea anhidrazei carbonice este reglată de către presiunea parţială a CO_2 (PCO_2). Astfel la nivelul ţesuturilor unde PCO_2 este mai crescută (în medie 46 mm Hg) reacţia este deviată spre dreapta, adică spre formarea de acid carbonic, iar la nivelul plămânilor, unde PCO_2 este de 40 mm Hg, reacţia este împinsă spre eliberarea de CO_2 care difuzează apoi în alveole. Cantităţile importante de anhidrază carbonică se găsesc şi în celulele tubilor renali unde asigură eliminarea H^+ în urină, precum şi în celule parietale ale mucoasei gastrice unde anhidraza joacă un rol important în procesul de secreţie a acidului clorhidric.

Hemoglobina contribuie la transportul de CO_2 nu doar prin formarea de compuşi carbaminici, ci mai ales prin variaţii ale gradului său de disociere, care contribuie la procesul de tamponare a H^+ şi de formare a bicarbonaţilor. S-a arătat astfel că hemoglobina oxigenată la nivelul plămânilor sub formă de oxihemoglobină este un acid de 40 ori mai puternic decât hemoglobina redusă care a cedat oxigen la nivelul ţesuturilor. Ca urmare, oxihemoglobina pune în libertate H^+, iar hemoglobina redusă acţionează ca o bază legând H^+ sub formă nedisociabilă. Aşa cum reiese din Fig.8.1, efectele mai sus menţionate se datorează mai ales grupărilor imidazol ale histidinei din structura globinei.

Rolul permeabilităţii selective a membranei hematiilor şi respectiv fenomenul de membrană descris de Hamburger sunt prezentate schematic în figurile 8.2 şi 8.3.

La nivelul ţesuturilor unde PCO_2 este mai crescută, CO_2 din lichidul extracelular va difuza în eritrocite unde sub acţiunea anhidrazei carbonice va forma acid carbonic, conform

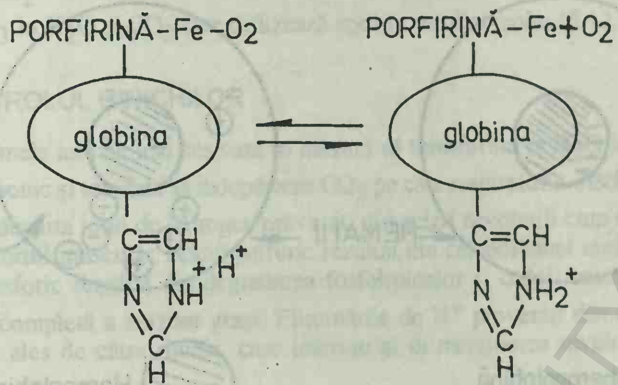


Fig. 8.1 Efectul oxigenării hemoglobinei asupra gradului său de disociere şi implicit asupra capacităţii de tamponare. Legarea O2 la hemoglobină face ca inelul imidazolic al histidinei din globină să elibereze H+ crescându-se aciditatea hemoglobinei.

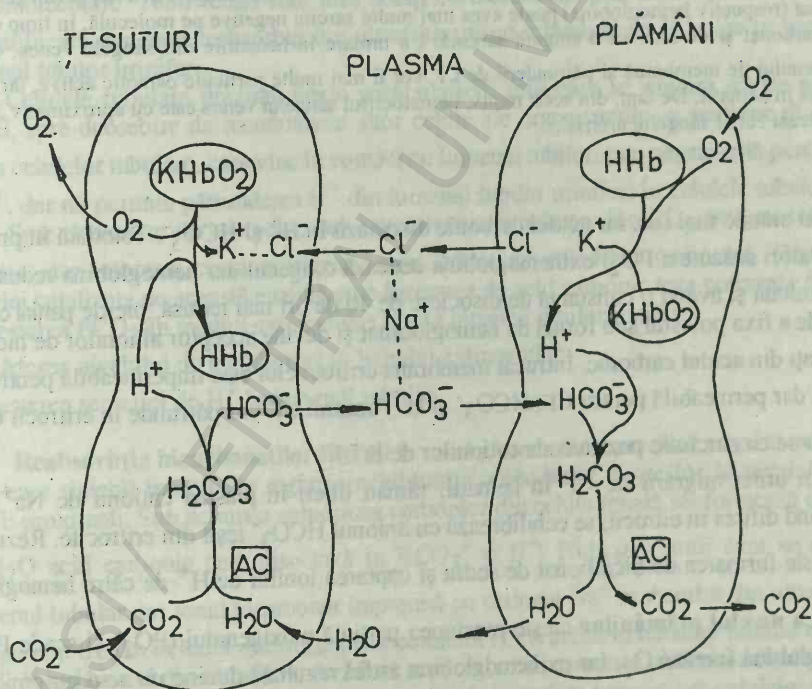


Fig.8.2. Fenomenul de membrană Hamburger şi deplasarea ionilor de clor. Detalii în text. KHbO2 = oxihemoglobinat de potasiu. HHb = hemoglobină redusă; AC = anhidrază carbonică.

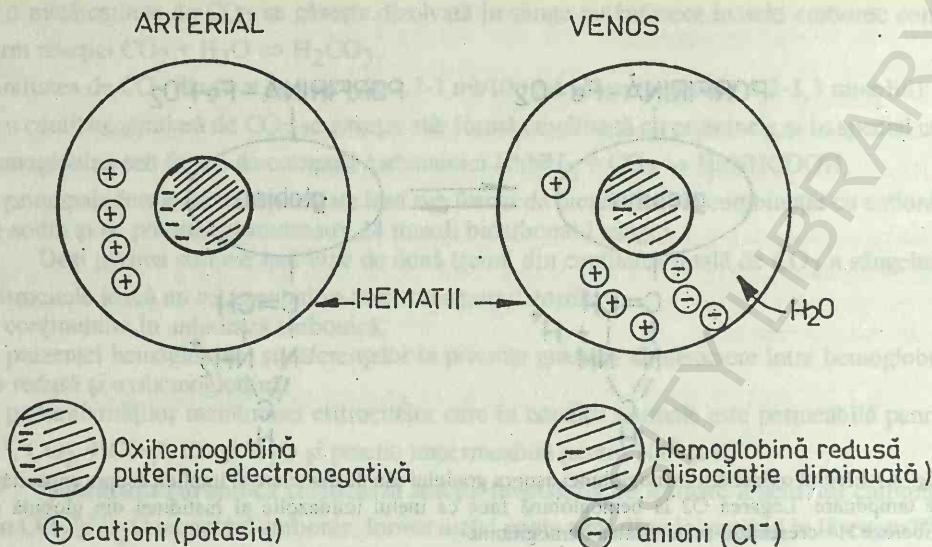


Fig.8.3. Echilibrul între anioni şi cationi în interiorul hematiilor din sângele arterial şi din cel venos. Proteina (respectiv hemoglobina) poate avea mai multe sarcini negative pe moleculă, în timp ce ionii de bicarbonat şi de clor au o singură sarcină. Ca urmare în hematiile din sângele venos, datorită fenomenului de membrană şi pătrunderii de Cl^- vor fi mai multe particule osmotic active, iar apa va fi atrasă în hematii. De fapt, din acest motiv, hematocritul sângelui venos este cu aproximativ 3% mai mare decât cel al sângelui arterial.

reacţiei arătate mai sus, iar acidul carbonic disociază în H^+ şi HCO_3^-. Totodată în prezenţa unei valori scăzute a PO_2, oxihemoglobina cedează oxigenul, iar hemoglobina redusă, astfel rezultată şi având o constantă de disociere de 40 de ori mai redusă, pierde parţial capacitatea de a fixa potasiul sub formă de hemoglobinat şi devine acceptor al ionilor de hidrogen disociaţi din acidul carbonic. Întrucât membrana eritrocitelor este impermeabilă pentru Na^+ şi K^+, dar permeabilă pentru Cl^-, HCO_3^- şi H^+, anionii Cl^- vor pătrunde în eritrocit echilibrându-se cu sarcinile pozitive ale cationilor de K^+.

În urma migrării de Cl^- în hematii, rămân liberi în plasmă cationii de Na^+, care neputând difuza în eitrocit, se echilibrează cu anionul HCO_3^- ieşit din eritrocite. Rezultatul final este formarea de bicarbonat de sodiu şi captarea ionilor de H^+ de către hemoglobina redusă.

La nivelul plămânilor creşte presiunea parţială a oxigenului (PO_2) şi scade PCO_2. Hemoglobina fixează O_2, iar oxihemoglobina astfel rezultată devine un acid puternic care eliberează H^+ şi fixează ionii de K^+ sub formă de oxihemoglobinat de potasiu. Ionii de Cl^- electronegativi vor părăsi deci hematiile şi ajunşi în plasmă vor reacţiona cu bicarbonaţii, fixând sodiul şi eliberând ionul HCO_3^-. Acesta pătrunde în hematii şi împreună cu H^+

eliberat prin disocierea oxihemoglobinei formează acid carbonic. Întrucât la nivelul plămânilor PCO_2 este relativ scăzută, anhidraza carbonică va acţiona în sensul descompunerii H_2CO_3 în H_2O şi CO_2 care difuzează apoi în aerul alveolar (5,12,16).

8.1.2.2. ROLUL RINICHILOR

Mecanismele arătate mai sus sunt în măsură să transforme în H_2O ionii de hidrogen din acidul carbonic şi totodată să îndepărteze CO_2 pe cale respiratorie. Astfel de mecanisme nu pot însă îndepărta ionii de hidrogen proveniţi din acizii nevolatili cum sunt acidul lactic rezultat din efortul muscular, acidul sulfuric rezultat din catabolismul aminoacizilor sulfuraţi, acidul fosforic rezultat din degradarea fosfolipidelor şi corpii cetonici produşi prin degradarea incompletă a acizilor graşi. Eliminările de H^+ proveniţi din aceste surse sunt asigurate mai ales de către rinichi, care intervin şi în menţinerea nivelului plasmatic de bicarbonaţi.

Mecanismele prin care rinichii intervin în reglarea echilibrului acido-bazic sunt prezentate în fig.8.4.

Este evident că la nivelul glomerulilor se vor filtra nu numai diverşii acizi nevolatili (de regulă sub formă de săruri de sodiu), dar şi toţi electroliţii, inclusiv sistemele tampon micromoleculare. Tubii renali sunt însă dotaţi cu mecanisme prin care cationii de Na^+ şi anionii bicarbonat sunt reabsorbiţi din ultrafiltrat fiind schimbaţi cu H^+ care se secretă în lumenul tubilor uriniferi.

Celulele tubulare prezintă unele particularităţi prin care se asigură aceste procese. Astfel, spre deosebire de membranele altor celule ale organismului, o porţiune din membrana celulelor tubulare, care vine în contact cu lumenul tubilor, este permeabilă pentru Na^+ şi K^+, dar nu permite pătrunderea H^+ din lumenul tubilor uriniferi în celulele tubulare.

Spre deosebire de eritrocite, celulele tubulare renale produc CO_2 prin metabolism aerobic, dar întocmai ca şi eritrocitele sunt dotate cu anhidrază carbonică. Deplasarea reacţiei catalizate de această enzimă spre formarea de acid carbonic este potenţată de:

a. creşterea PCO_2 în mediul extracelular sau în lumenul tubilor renali;

b. scăderea nivelului de bicarbonaţi în lichidul extracelular;

c. creşterea secreţiei de H^+ în lumenul tubular.

Reabsorbţia bicarbonaţilor filtraţi la nivel glomerular reprezintă un prim mecanism prin care rinichii intervin în reglarea echilibrului acido-bazic şi are loc la nivelul tubilor renali proximali. Sub acţiunea anhidrazei carbonice din celula renală se formează din CO_2 şi H_2O acid carbonic care disociază în HCO_3^- şi H^+. Hidrogen ionii sunt secretaţi în lumenul tubular, iar ionul bicarbonat împreună cu cationul Na^+ reabsorbit din ultrafiltratul glomerular trec în lichidul interstiţial. Concomitent H^+ secretat în lumenul tubular este captat de bicarbonatul din ultrafiltrat formând acid carbonic, care este însă rapid descompus în CO_2 şi H_2O de către o altă anhidrază carbonică la suprafaţa membranei celulelor tubulare renale aflate în contact direct cu lumenul tubilor renali. CO_2 difuzează în celula renală, reluându-se procesul mai sus arătat. De notat că H^+ secretat este în cea mai mare măsură

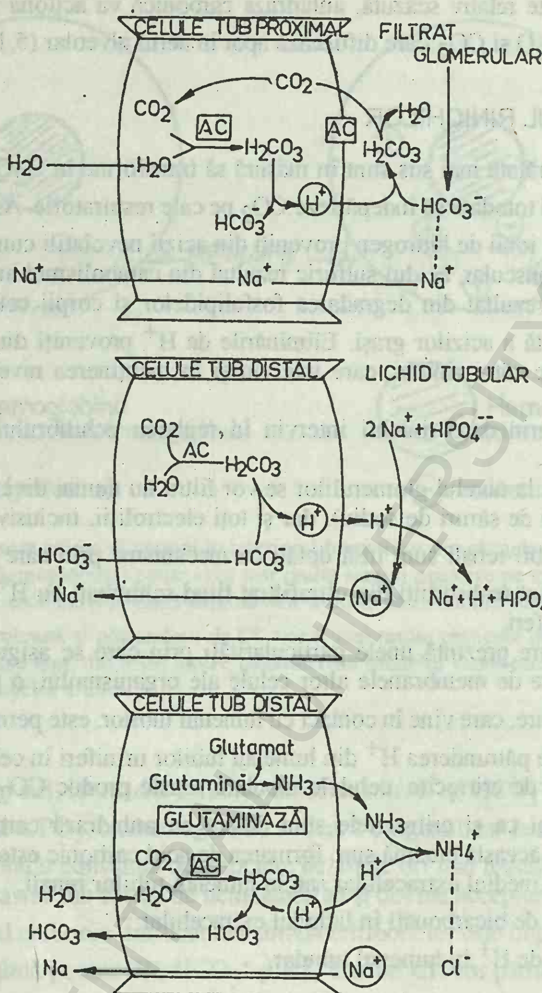


Fig. 8.4. Rolul rinichilor în reglarea echilibrului acidobazic.
A. Reabsorbția bicarbonaților în tubul proximal.
B. Secreția de H+ în tubul distal. Intervenția sistemului tampon de fosfați.
C. Producerea de amoniac în tubul distal.
AC = anhidraza carbonică. Detalii în text.

transformat în H_2O, astfel încât pH-ul urinei nu suferă inițial modificări importante la nivelul tubilor proximali. Pe măsură însă ce se reabsorb în continuare bicarbonații, valoarea pH din urină scade, iar la un pH urinar sub 6,5 acești anioni sunt practic absenți în lumenul tubular.

Transformarea fosfatului disodic din ultrafiltrat în fosfat monosodic are loc la nivelul tubilor distali. Ionii de hidrogen, formați prin același mecanism catalizat de

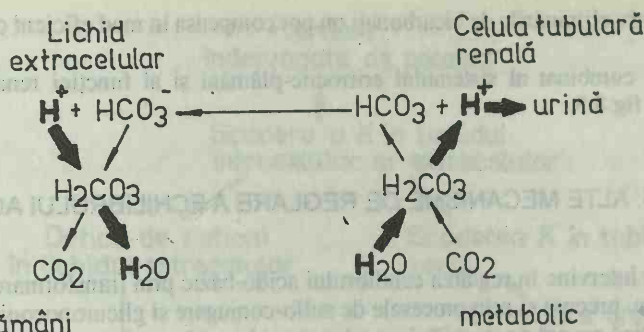


Fig. 8.5. Schemă simplificată a intervenției plămânilor și rinichilor în tamponarea ionilor de hidrogen și în eliminarea lor.

anhidraza carbonică, difuzează în lumenul tubular și reacționează cu fosfatul disodic (Na_2HPO_4) formând fosfat monosodic (NaH_2PO_4), iar cationul Na^+, astfel eliberat, difuzează în celule tubulare și de acolo în lichidul interstițial sub formă de bicarbonați de sodiu, după o prealabilă echilibrare cu anionul HCO_3^- format în celulele renale prin reacția mai sus amintită. În urma acestor procese urina câștigă H^+, iar pH-ul urinar scade (de regulă sub pH 6), în timp ce sângele realizează un câștig net de bicarbonat de Na.

Producția de amoniac la nivelul tubilor distali, constituie un alt mecanism de eliminare a H^+, procesul accentuându-se în caz de acidoză. Acest mecanism, completat cu acțiunea mai sus amintită a anhidrazei carbonice este deosebit de eficient. Amoniacul (NH_3) rezultă prin deamidarea glutaminei sub acțiunea glutaminazei, iar glutamatul produs mai poate furniza o moleculă de NH_3 sub acțiunea glutamat-dehidrogenazei. Amoniacul, fiind liposolubil, traversează cu ușurință membrana lipoidică a celulelor tubulare renale, difuzând în lumen. Aici, NH_3 reacționează cu H^+ și formează ioni de amoniu (NH_4^+). Spre deosebire de amoniac, ionii de amoniu sunt relativ insolubili în lipide, nu pot difuza în celule și rămân în fluidul din lumenul tubular, unde se echilibrează cu anioni, ca de exemplu Cl^-. Ca urmare, se favorizează reabsorbția unor noi cantități de ioni de Na^+ așa cum reiese din fig.8.4.

Cantitatea de ioni de NH_4^+, formată în urină, depinde de intensitatea secreției de H^+. În condiții normale, un adult excretă în urină 0,6-0,8 g amoniu/24 ore. Într-o urină alcalină, excreția de amoniu tinde spre zero, iar în caz de acidoză cronică (de exemplu acidoza diabetică prelungită) se pot elimina zilnic peste 10 g. De notat că acidoza și creșterea PCO_2 stimulează activitatea glutaminazei în celulele tubilor renali (16).

Excreția de bicarbonați survine doar când concentrația plasmatică a acestora depășește 28 mEq/l, iar în astfel de situații urina devine alcalină. De notat că așa cum se arată în fig.8.4, ionul bicarbonat nu este reabsorbit direct, printr-un proces activ de transport. Datorită însă transformării bicarbonaților în acid carbonic în lumenul tubular, urmată de descompunerea H_2CO_3 în H_2O și CO_2 care difuzează apoi în celule tubulare, bicarbonații filtrați nu ajung să se elimine în urină decât dacă depășesc valoarea mai sus amintită.

Din acest motiv eliminările de bicarbonaţi nu pot compensa în mod eficient o alcaloză metabolică.

Efectul combinat al sistemului eritrocite-plămâni şi al funcţiei renale este ilustrat schematic în fig.8.5.

8.1.2.3. ALTE MECANISME DE REGLARE A ECHILIBRULUI ACIDO-BAZIC

Ficatul intervine în reglarea echilibrului acido-bazic prin transformarea acidului lactic în glicogen, precum si prin procesele de sulfo-conjugare şi glicuronoconjugare, iar insuficienţa hepatică severă poate duce în unele cazuri la acidoză, dacă bolnavul nu prezintă şi o hiperventilaţie cauzată de excitarea centrului respirator de către substanţele toxice reţinute. **Pielea**, prin glandele sudoripare, contribuie doar într-o mică măsură la înlăturarea excesului de acizi, reacţia secreţiei sudorale fiind dependentă de pH-ul sângelui. **Glandele digestive** intervin şi ele, sucul gastric fiind de regulă mai acid în stările de acidoză, iar pierderile masive de sucuri digestive alcaline în diareile profuze şi prelungite duc la acidoză (5,6,12,16).

8.1.2.4. RELAŢIA DINTRE ECONOMIA POTASIULUI ŞI ECHILIBRUL ACIDO-BAZIC

Întrucât între H^+ şi de K^+ există o competiţie în privinţa eliminărilor la nivelul tubilor renali, economia potasiului se află în strânsă şi reciprocă conexiune cu echilibrul acido-bazic.

a.Efectele hipo- şi hiperpotasemiilor asupra echilibrului acido-bazic.

În cazul unei depleţii severe de potasiu, ca de exemplu după un tratament îndelungat cu corticoizi, se ajunge la o scădere a acestui cation nu numai în umori, dar şi în celulele tubilor renali. În lipsa competiţiei furnizate de K^+ se vor elimina cantităţi sporite de H^+ în urină care devine intens acidă. Deoarece secreţia sporită de H^+ se asociază cu o accentuare a reabsorbţiei de bicarbonaţi, ionul bicarbonat va creşte în plasmă. Pe de altă parte depleţia de potasiu, la nivelul altor celule ale organismului, duce la pătrunderea H^+ în aceste celule, în baza tendinţei de refacere a echilibrului electrostatic. De notat că membranele celulare sunt permeabile pentru H^+, dar că prin acţiunea "pompei de sodiu" acest cation (adică Na^+) nu poate pătrunde în celule şi nu poate înlocui deficitul de potasiu.

Difuzarea H^+ din sânge în celule, asociată eliminarilor crescute de H^+ în urină şi implicit reabsorbţiei crescute de bicarbonaţi, vor duce la o deviere a valorilor de pH ale sângelui spre latura alcalină. Aşa cum reiese din figura 8.6 în astfel de cazuri se ajunge la acidoză intracelulară, alcaloză umorală şi la excreţia unei urini foarte acide (acidurie paradoxală). Anomaliile descrise mai sus se reduc după corectarea deficitului de potasiu. Dacă acest deficit persistă un timp mai îndelungat, se poate ajunge la instalarea unor leziuni ireversibile ale celulelor tubulare. În această situaţie reabsorbţia tubulară de bicarbonaţi scade, iar alcaloza extracelulară va diminua pe măsură ce funcţia renală se alterează.

Excesul de potasiu ar trebui, din punct de vedere teoretic să ducă la acidoză extracelulară. Practica clinică arată însă că de cele mai multe ori hiperpotasemia şi acidoza extracelulară sunt cauzate de o insuficienţă renală, când se perturbă atât eliminările de pota-

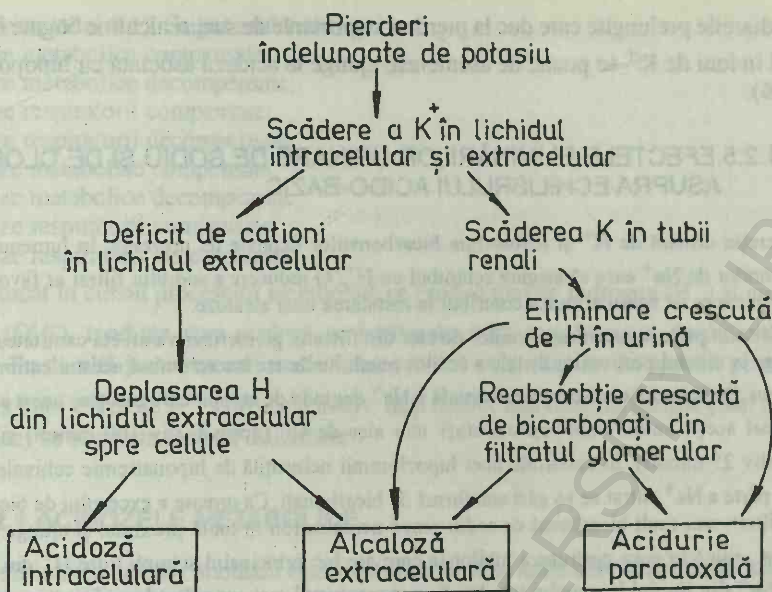


Fig. 8.6. Reprezentarea schematică a mecanismelor care determină perturbarea echilibrului acido-bazic în deficitul de potasiu. Noțiunea de acidurie paradoxală atrage atenția în privința contrastului între o urină acidă și un nivel crescut al bicarbonaților plasmatici.

siu cât și cele de H^+. Este evident că în aceste cazuri acidoza nu este o consecință a hiperpotasemiei.

b.Efectele acidozei sau alcalozei asupra economiei potasiului

Datorită competiției, mai sus amintite, între eliminările urinare de H^+ și de K^+, acidozele se soldează de cele mai multe ori cu creșterea potasiului seric. De fapt, eliminările sporite de H^+ la nivelul tubilor renali, interferează cu eliminările de K^+, acest cation reținându-se în plasmă. La creșterile de K^+ în lichidul extracelular contribuie, în mai mică măsură, și dislocările acestui cation din celule de către excesul de H^+ din sânge.

Pe de altă parte, în caz de alcaloză, de exemplu după administrarea de bicarbonat de sodiu unui subiect normal, sau după vărsături incoercibile și pierderi de H^+, scăderea concentrației de H^+ în sânge și în celulele renale, va avea drept efect o eliminare crescută de K^+ în urină. În astfel de cazuri, pierderile urinare de K^+ și hipopotasemia apar ca o consecință a alcalozei, iar urina va fi alcalină.

La o situație particulară se ajunge în urma administrării de acetazolamidă, un inhibitor al anhidrazei carbonice când se reduce formarea de acid carbonic și implicit scad eliminările de H^+ la nivelul tubilor renali. Ca urmare, se vor accentua eliminările urinare de K^+ astfel încât se instalează o acidoză însoțită de hipopotasemie. Asocierea acidozei cu hipopotasemia se mai întâlnește în așa-zisa "acidoză renală tubulară" cauzată de deficite genetice sau câștigate ale mecanismelor de eliminare tubulară a H^+. Asupra acestor aspecte se va reveni ulterior.

În diareile prelungite care duc la pierderi importante de sucuri alcaline bogate în bicarbonaţi şi în ioni de K^+ se poate, de asemenea, ajunge la acidoză asociată cu hipopotasemie (10,12,16).

8.1.2.5.EFECTELE ELIMINĂRILOR URINARE DE SODIU ŞI DE CLOR ASUPRA ECHILIBRULUI ACIDO-BAZIC

Excreţia urinară de H^+ şi reabsorbţia bicarbonaţilor depinde de prezenţa, în lumenul tubilor renali, a ionilor de Na^+ care să asigure schimbul cu H^+. O reducere a sodiului filtrat ar favoriza acidoza, iar un exces de sodiu ar putea contribui la instalarea unei alcaloze.

Pe de altă parte, concentraţia ionilor de clor din filtratul glomerular va afecta cantitatea de Na^+ care ajunge la nivelul porţiunilor distale a tubilor renali, unde are loc schimbul acestui cation cu ioni de hidrogen. De notat că reabsorbţia proximală a Na^+ depinde de anionii care însoţesc acest cation. În mod normal aceşti anioni sunt reprezentaţi mai ales de Cl^- (aproximativ 100 mmoli) şi HCO_3^- (aproximativ 25 mmoli). În condiţiile unei hipocloremii neînsoţită de hiponatremie echivalentă, cea mai mare parte a Na^+ filtrat se va găsi sub formă de bicarbonaţi. Ca urmare a excesului de bicarbonaţi din ultrafiltrat, mai mult bicarbonat de sodiu scapă nereabsorbit în tubul proximal şi ajunge astfel în tubul distal, adică în acea porţiune a tubilor la care are loc principalul schimb între H^+ din celulele renale şi Na^+ din fluidul lumenului tubular. Prin mecanismul mai sus arătat hipocloremia va duce la agravarea unei alcaloze (16).

8.2. ANOMALII ALE ECHILIBRULUI ACIDO-BAZIC. ACIDOZE ŞI ALCALOZE

Aşa cum a reieşit din cele expuse anterior, tamponul bicarbonat/acid carbonic este esenţial în determinarea valorilor de pH, iar componentele sale pot fi cu uşurinţă determinate. Totodată orice perturbare a homeostaziei ionilor de hidrogen, va afecta sistemul tampon mai sus menţionat. Din aceste motive este convenabil de a se discuta perturbările echilibrului acido-bazic în funcţie de modificările raportului $[HCO_3^-]/PCO_2$. Atunci când anomalia duce la scăderea bicarbonaţilor se ajunge la **acidoze metabolice**, iar o creştere a bicarbonaţilor va realiza **alcaloza metabolică**. Pe de altă parte, în anomaliile care duc la creşterea PCO_2 se va dezvolta o **acidoză respiratorie**, în timp ce scăderea PCO_2 semnalează o **alcaloză respiratorie**.

În dereglările de **cauză metabolică** a echilibrului acido-bazic, mecanismele compensatorii se exercită la nivelul plămânilor afectând PCO_2 care se modifică în acelaşi sens cu bicarbonatul, scăzând în acidoze şi crescând (ineficient) în alcaloze.

În dereglările de **cauză respiratorie**, mecanismele compensatorii se realizează la nivel renal prin reglarea reabsorbţiei bicarbonaţilor. Astfel, efortul de compensare într-o acidoză respiratorie este dirijat spre creşterea concentraţiei de bicarbonaţi, pe când într-o alcaloză respiratorie se tinde spre limitarea reabsorbţiei bicarbonaţilor şi scăderea concentraţiei lor în sânge. Reacţiile compensatorii pot corecta parţial sau total valorile pH, dar $[HCO_3^-]$ şi respectiv PCO_2 rămân anormale până la corectarea anomaliei primare. În funcţie de modificările suferite de pH, acidozele şi alcalozele pot fi compensate sau decom-

pensate (vezi tabel 8.1). Se pot astfel distinge:
1) acidoze metabolice compensate;
2) acidoze metabolice decompensate;
3) acidoze respiratorii compensate;
4) acidoze respiratorii decompensate;
5) alcaloze metabolice compensate;
6) alcaloze metabolice decompensate;
7) alcaloze respiratorii compensate;
8) alcaloze respiratorii decompensate.

Întrucât în cursul proceselor metabolice se produc ioni de hidrogen (H^+) şi nu ioni de hidroxil (OH^-), tendinţa spre acidoză se întâlneşte mult mai frecvent decât tendinţa la alcaloză. Pe de altă parte, mecanismele homeostatice sunt adaptate în special pentru contracararea unui exces de H^+. Din acest motiv, deşi relativ mai rare, alcalozele (mai ales cele metabolice) se compensează cu dificultate.

8.2.1.ACIDOZELE METABOLICE

În discutarea acestor anomalii este important de a se arăta care sunt stările patologice evoluând cu acidoză metabolică, care sunt mecanismele compensatorii şi care sunt consecinţele asupra organismului. Anomalia primară în acidozele metabolice constă în scăderea bicarbonaţilor şi ea se poate datora:
1. unei utilizări crescute a bicarbonaţilor în procesul de tamponare, această utilizare depăşind capacitatea rinichilor de a înlocui bicarbonaţii consumaţi;
2. unor pierderi extrarenale de bicarbonaţi într-un ritm care depăşeşte capacitatea rinichilor de a-i înlocui;
3.unei perturbări a proceselor generatoare de bicarbonaţi de la nivelul tubilor uriniferi.

8.2.1.1.UTILIZAREA CRESCUTĂ A BICARBONAŢILOR ÎN PROCESUL DE TAMPONARE (STĂRI PATOLOGICE CARE DUC LA O SUPRAPRODUCŢIE DE H^+)

Producerea multor metaboliţi anionici se asociază cu eliberarea de H^+. O parte a H^+ este metabolizată în continuare, dar în cazul blocării unei căi metabolice, H^+ va fi tamponat cu HCO_3^- formând acid carbonic. Cât timp adaosul de H^+ la lichidul extracelular nu este prea rapid, generarea de HCO_3^- la nivelul tubilor renali şi secreţia de H^+ pot preveni o scădere importantă a concentraţiei bicarbonaţilor din sânge. Depăşirea acestor mecanisme de către o producţie excesivă de H^+, duce la scăderea bicarbonaţilor care sunt înlocuiţi de către o cantitate echivalentă de metaboliţi anionici. Valorile pH mai pot fi încă menţinute în limite normale printr-o accelerare a eliminărilor de CO_2 (hiperventilaţie), dar capacitatea de tamponare rămâne scăzută. Atunci când şi acest mecanism este depăşit se ajunge la scăderea valorii pH şi la instalarea unei acidoze metabolice decompensate.

Principalele cauze care duc la utilizarea crescută a bicarbonaţilor, la subiectul adult,

urina, chiar şi în prezenţa unei acidoze sistemice severe. În timp ce activitatea anhidrazei carbonice şi implicit reabsorbţia bicarbonaţilor decurg normal la nivelul tubilor proximali, celulele tubulare distale sunt incapabile să excrete H^+ şi să genereze bicarbonaţi. Acest deficit se datorează unei anomalii a membranei luminale a acestor celule care devin permeabile pentru H^+ secretat în lumen, astfel încât aceşti ioni de hidrogen redifuzează în celulele tubulare distale unde inhibă anhidraza carbonică. Ca urmare se perturbă generarea de bicarbonaţi şi acidifierea urinei. Acidoza tubulară distală poate avea un caracter familial sau câştigat. În toate cazurile anomalia se instalează însă în mod secundar, ca urmare a lezării celulelor tubulare distale. Între anomaliile genetice de metabolism care produc acest efect se citează boala Wilson (depunere de cupru în tubii renali distali), cistinoza (depunerea de cistină), galactozemia (depunerea de galactozo-1-fosfat), intoleranţa ereditară la fructoză (depunerea de fructozo-1-fosfat) şi boala Fabry (depunerea de glucozosfingolipide anormale).

Lezarea tubilor renali distali poate surveni şi sub acţiunea unor toxice ca de exemplu amfotericina B şi mercurul. Hipercalcemiile severe şi proteinuria Bence-Jones, apărută în cadrul unui mielom multiplu, pot duce de asemeni la impregnarea tubilor renali distali.

Acetazolamida, un inhibitor al anhidrazei carbonice, produce un efect similar cu cel al acidozelor tubulare, iar un tratament prelungit poate duce la acidoză metabolică asociată cu hipercloremie şi hipopotasemie.

De notat că **diferite forme de nefrite** sau **cauze extrarenale** care duc la **scăderea filtratului glomerular** şi implicit la reducerea cantităţilor totale de sodiu şi de fosfaţi din ultrafiltrat pot afecta corectarea prin mecanism renal a unei acidocetoze sau a unei acidoze lactice.

Pielonefritele pot afecta selectiv tubii renali, dar acidozele date de o **insuficienţă renală globală** sunt mai comune. Acestea se asociază cu creşterea în ser a ureei şi creatininei, iar, spre deosebire de acidozele tubulare, evoluează cu hiperpotasemie.

Toate acidozele prelungite favorizează decalcifierea oaselor şi duc la eliminări urinare crescute de calciu. Atât timp cât urina este acidă, precipitarea sărurilor de calciu este prevenită, dar în acidoza tubulară distală, când urina este alcalină se ajunge frecvent la formarea de calculi sau la nefrocalcinoză (3,8,16).

8.2.2. ALCALOZELE METABOLICE

Acest tip de dereglare a echilibrului acido-bazic se întâlneşte relativ rar şi de multe ori este provocat de pacient sau de medicul curant. Creşterea bicarbonaţilor se însoţeşte de regulă de hipopotasemie şi de scăderea calciului ionic ceea ce creează o predispoziţie la tetanie.

Efortul de corecţie în alcaloza metabolică constă în creşterea PCO_2, prin reducerea funcţiei respiratorii, şi mai ales prin inhibarea sistemului enzimatic al anhidrazei carbonice din tubii renali de către concentraţia crescută a bicarbonaţilor în lichidul extracelular. De subliniat că mecanismele compensatorii din alcaloza metabolică au o eficienţă redusă.

Creşterile, cu caracter iniţial, ale bicarbonaţilor din sânge survin în trei situaţii.

1. **Administrarea terapeutică a unor mari cantităţi de bicarbonat** sub formă de infuzii intravenoase sau chiar pe cale orală, poate depăşi capacitatea de eliminare la nivel renal, mai ales în cazurile în care există o reducere a filtratului glomerular.

2. **Depleţia severă de potasiu** poate provoca alcaloză metabolică prin mecanismul descris anterior (vezi fig.8.6), iar eficienţa administrării terapeutice de potasiu se poate evi-

denţia şi prin scăderea concentraţiei bicarbonaţilor din sânge.

3. **Stenoza pilorică** duce la instalarea unei alcaloze metabolice cu caracter particular atât în privinţa mecanismelor de producere cât şi a manifestărilor umorale. Se ştie că secreţia de HCl de către celulele parietale ale mucoasei gastrice este condiţionată de acţiunea anhidrazei carbonice, astfel încât pentru fiecare mmol de H^+ secretat în stomac (întovărăşit de Cl^-), se generează un mmol de HCO_3^-, care trece în plasmă înlocuind anionul Cl^-.

În mod normal, acest proces este urmat de secreţia de HCO_3^- în duoden. În caz de vărsături survenite la un subiect cu pilor permeabil, pierderile de HCl se însoţesc şi de pierderi de bicarbonaţi refluaţi în stomac, astfel încât echilibrul acido-bazic este afectat doar în mică masură. În cazul unui bolnav cu stenoză pilorică, obstrucţia dintre stomac şi duoden face ca pierderile de H^+ şi generarea de HCO_3^- să nu fie întovărăşite de o pierdere de bicarbonaţi, iar dacă nu survine o eliminare rapidă a acestora la nivelul rinichilor, se va instala o alcaloză metabolică.

Corectarea alcalozei la bolnavii cu stenoză pilorică este stânjenită de o serie de factori. Astfel deshidratarea va duce la scăderea filtratului glomerular şi implicit la reducerea eliminărilor urinare de bicarbonaţi. De notat cu acest prilej că reducerea irigaţiei renale şi a filtratului glomerular poate agrava atât o acidoză cât şi o alcaloză. Totodată, reducerea volumului lichidului extracelular şi a irigaţiei rinichilor poate determina o secreţie crescută de aldosteron care favorizează reabsorbţia de Na^+şi eliminările de K^+. Aceasta duce la o agravare atât a alcalozei cât şi a hipopotasemiei. De precizat că hipopotasemia nu este o consecinţă directă a pierderilor de K^+ prin vărsături, ci survine ca urmare a alcalozei, respectiv a reducerii concentraţiei de H^+ în celulele tubilor renali.

Un alt factor agravant este hipocloremia cauzată de pierderile de Cl^- prin vărsături. În consecinţă se reduce şi clorul din filtratul glomerular, ceea ce împietează asupra reabsorbţiei isoosmotice proximale a ionilor de Na^+ în echilibrul electrostatic cu Cl^-. Ca urmare mai mult Na^+ ajunge în tubii distali pentru schimb cu H^+. Ansamblul mecanismelor arătate mai sus se soldează cu o alcaloză hipocloremică şi hipopotasemie (16).

Aşa cum se va vedea în cele ce urmează creşterea bicarbonaţilor sanguini în bolile aparatului respirator survin în mod secundar şi au caracterul unui mecanism compensator.

8.2.3. ACIDOZELE RESPIRATORII ŞI HIPOXIA

Anomalia iniţială în acidoza respiratorie este reprezentată de creşterea PCO_2, iar gradul de compensare depinde de activitatea anhidrazei carbonice la nivelul tubilor renali şi respectiv generarea de bicarbonaţi şi eliminarea de H^+ (vezi tabel 8.1). De notat că procesul de compensare este de multe ori ineficient atunci când insuficienţa respiratorie se instalează prea rapid pentru a permite o generare adecvată de bicarbonaţi în celulele tubilor renali.

8.2.3.1. STĂRI PATOLOGICE CARE PERTURBĂ FUNCŢIA ALVEOLELOR PULMONARE

Întrucât perturbările funcţiei alveolare afectează atât transportul de CO_2 cât şi pe cel

Tabel 8.1.

Comportarea pH, PCO_2 şi HCO_3^- în anomalii ale echilibrului acido-bazic, în funcţie de eficienţa mecanismelor compensatorii. Modificările compensatorii pot corecta parţial sau total valorile pH dar capacitatea tampon rămâne anormală până când se corectează anomalia iniţială

Tipul anomaliei	Decompensat			Parţial compensat			Deplin compensat		
	pH	PCO_2	HCO_3^-	pH	PCO_2	HCO_3^-	pH	pCO_2	HCO_3^-
Acidoză Metabolică	↓↓	N* sau ↓	↓↓	↓	↓	↓↓	N	↓↓	↓↓
Respiratorie	↓↓	↑↑	N sau ↑	↓	↑↑	↑	N	↑↑	↑↑
Alcaloză Metabolică	↑↑	N* sau ↓	↑↑	Compensarea este relativ ineficientă					
Respiratorie	↑↑	↓↓	N	↑	↓↓	↓	N	↓↓	↓↓

* Decompensarea se apreciază în funcţie de comportarea pH. Astfel dacă o scădere compensatorie a PCO_2 nu contracarează scăderea exagerată a HCO_3^-, acidoza metabolică va fi decompensată, valoarea pH fiind scăzută. Cu alte cuvinte, decompensarea apare fie ca o consecinţă a deficienţei mecanismelor homeostatice cu rol de compensare, fie ca urmare a depăşirii acestor mecanisme (de exemplu de către o producere excesivă de acizi într-o acidocetoză diabetică care depăşeşte răspunsurile în sens adecvat ale reabsorbţiei renale de bicarbonaţi şi de eliminare respiratorie a CO_2).

de O_2 este logic ca aceste defecte să fie discutate împreună. În principiu, schimburile gazoase de la nivelul alveolelor pot fi împiedicate de următoarele cauze:

1. Leziuni ale pereţilor alveolari care perturbă difuziunea gazelor între sânge şi cavitatea alveolară.

2. Sacul alveolar poate fi umplut parţial sau total cu un lichid de edem sau cu un exudat.

3. Pătrunderea aerului în alveole poate fi perturbată de blocarea căilor respiratorii sau prin reducerea amplitudinii mişcărilor respiratorii.

La aceste anomalii se mai adaugă modificările aportului de sânge la plămâni.

În bronşitele acute şi cronice, pneumonii lobare şi bronhopneumonii intervin mai mult de unul din mecanismele menţionate mai sus, afectând porţiuni mai mult sau mai puţin extinse din plămâni.

În edemul pulmonar, lichidul de edem afectează într-un grad mai exprimat difuzarea oxigenului decât difuzarea CO_2, iar reducerea aerării ambilor plămâni survine în blocarea principalei căi respiratorii (spasm laringian, corp străin în laringe).

Perturbările mişcărilor respiratorii pot fi datorate unor traumatisme, unei spondilite ankilopoietice sau unei obezităţi excesive (sindrom Pickwick) care duce la hipoventilaţie.

Leziunile trunchiului cerebral afectând centrul respirator sau oprirea transmiterii influxului nervos spre muşchii cutiei toracice în caz de poliomielită sau nevrite pot de asemenea compromite funcţia respiratorie.

O situaţie particulară este realizată în emfizemul pulmonar şi sclerozele pulmonare când la disfuncţia alveolelor se adaugă o reducere a aportului de sânge la alveole, cu efecte diferite asupra nivelelor de O_2 şi CO_2 în sângele arterial (13).

8.2.3.2. COMPORTAREA PCO_2 ŞI A PO_2 ÎN DISFUNCŢIILE RESPIRATORII

Toate stările patologice care duc la creşterea PCO_2 se vor asocia cu o scădere a PO_2, dar o valoare redusă a PO_2 nu este întotdeauna întovărăşită de o creştere a PCO_2. Comportarea diferită a acestor variabile în bolile aparatului respirator pot avea mai multe cauze.

a. O primă cauză poate fi reprezentată de difuzibilitatea diferită a celor două gaze, CO_2 având o difuzibilitate de aproximativ 20 de ori mai mare decât oxigenul.

b. Gradul variabil de extindere a leziunilor pulmonare constituie a altă explicaţie pentru comportarea diferită a PCO_2 şi a PO_2.

c. Variaţii în aportul de sânge la nivelul alveolelor contribuie de asemeni la diferenţele între comportarea PCO_2 şi a PO_2.

Un exemplu tipic pentru cele relatate mai sus este furnizat de edemul pulmonar. Perturbarea difuzării în sânge a oxigenului din alveolele pline cu lichid de edem duce la scăderea PO_2, iar hipoxia excită centrul respirator, având ca urmare o creştere a ventilaţiei. În astfel de condiţii CO_2 care este mult mai difuzibil poate fi îndepărtat putându-se ajunge la scăderea PCO_2.

În caz de pneumonii sau atelectazii limitate, o proporţie relativ însemnată de alveole rămâne neafectată, iar creşterea ventilaţiei asigură o bună oxigenare a sângelui în aceste zone funcţionale şi o eliminare sporită a CO_2 a cărei presiune parţială (PCO_2) poate să

Tabel 8.2.

Comportarea PO_2 şi PCO_2 în sângele arterial al bolnavilor cu afecţiuni pulmonare, în funcţie de extinderea leziunilor şi de gradul de irigaţie a alveolelor afectate.

	Aportul de sânge la alveolele disfuncţionale	PO_2	PCO_2
Leziuni limitate	normal	↓	N sau ↓
	redus	N sau ↓	↓
Leziuni extinse	normal	↓↓	↑
	redus	↓	N sau ↑

scadă. Întrucât sângele care vine de la alveolele intacte se amestecă cu sângele provenit din zonele în care oxigenarea a fost compromisă, conţinutul în oxigen al sângelui arterial va fi diminuat (PO_2 redus) în timp de PCO_2 va prezenta valori normale sau scăzute.

Dacă însă, proporţia de alveole nefuncţionale este mare, scăderea PO_2 va fi mai exprimată şi se va asocia cu o creştere a PCO_2. În cazurile în care PO_2 scade în sângele arterial sub 60 mm Hg se reduce evident gradul de saturare cu oxigen a hemoglobinei şi bolnavul devine cianotic.

O situaţie particulară este reprezentată de stările în care disfuncţia alveolară se asociază cu o reducere a aportului de sânge spre zona afectată. Ca urmare, sângele arterial va proveni aproape numai din alveolele normale iar PO_2 se reduce mai puţin decât atunci când alveolelor disfuncţionale li se asigură un aport normal de sânge. În astfel de asocieri ale disfuncţiei alveolare cu reducerea fluxului sanguin pe zona afectată, cianoza apare doar în forme deosebit de extinse şi cu evoluţie prelungită (vezi tabelul 8.2.).

Ca urmare a mecanismelor descrise mai sus şi în funcţie de comportarea PO_2 şi a PCO_2 în sângele arterial afecţiunile pulmonare pot fi grupate în două categorii:

1) PO_2 scăzut, PCO_2 normal sau scăzut se constată în edem pulmonar, pneumonie francă lobară, atelectazie pulmonară limitată, fibroză sau infiltraţii limitate.

2) PO_2 scăzut asociat cu PCO_2 crescut se observă în paralizii ale centrului respirator, poliomielita care perturbă mişcările cutiei toracice, spasm laringian, atelectazii şi fibroze extinse, astm sever, bronhopneumopatie cronică obstructivă. Acelaşi aspect se poate întâlni în spondilita ankilopoietică şi în obezitatea excesivă care duce la hipoventilaţie accentuată (13).

Valorile normale ale PCO_2 şi PO_2 sunt trecute în tabelul 8.3. alături de câteva exemple tipice de anomalii ale echilibrului acido-bazic.

Tabel 8.3.

Comportarea principalilor parametri ai echilibrului acido-bazic furnizaţi de analizorul de gaze AVL în diverse stări patologice. Exemple ilustrative.

		pH	PCO_2 (mm Hg)	BE (mEq/l)*	BEecl** (mEq/l)	BB (mEq/l)	HCO_3^-	PO_2 (mm Hg)	O_2sat. %
Valori normale	arterial	7,38 - 7,45	35-42	-2,3; +2,3	-2,3; +2,3	45-48	24-26	80-100	94-100
	venos	7,34 - 7,42	40-49	-2,3; +2,3	-2,3; +2,3	46-49	25-27	20-40	60-85
Acidoză metabolică (sânge venos)	decompensată	7,251	28,6	-11,0	-12,3	35	12,2	55	86,5
	compensată	7,349	31,1	-7,1	-7,8	40,8	16,6	60	85
Acidoză respiratorie (sânge arterial)	decompensată	7,291	73	+6,4	+6,6	54,4	37,2	55	80
	compensată	7,344	75,6	+12,7	+14,6	60	40	65	85
Alcaloză metabolică (sânge arterial)	decompensată	7,610	35	+11,2	+10,3	54	34	90	94
	compensată	mecanismele compensatorii sunt ineficiente							
Alcaloză respiratorie (sânge arterial)	decompensată	7,578	22	-3,5	-4,8	44	20	80	90
	compensată parţial	7,441	32,2	-0,7	-1,3	47	21	92	97

* Valorile HCO_3^- pot fi exprimate atât ca mmoli/l cât şi ca mEq/l - întrucât HCO_3^- este monovalent;
** = BE în fluidele extracelulare

8.2.4. ALCALOZA RESPIRATORIE

Anomalia apare ca urmare a unei respiraţii accelerate şi profunde care duce la scăderea PCO_2. O astfel de hiperventilaţie este de cele mai multe ori consecutivă unei excitaţii puternice a centrului respirator cauzată de hipoxia survenită prin expunerea la o atmosferă rarefiată (la mari altitudini), de leziuni ale trunchiului cerebral şi uneori ca o manifestare a unei crize de isterie.

Un oarecare grad de alcaloză respiratorie se constată în stări septice şi în general în stări febrile evoluând cu o respiraţie accelerată şi profundă.

Respiraţia artificială excesivă practicată în serviciile de terapie intensivă, cuplată uneori cu perfuzii de bicarbonat, pot duce la o alcaloză extrem de severă în care componenta respiratorie şi cea metabolică se sumează.

Ca în orice alcaloză, în astfel de cazuri se ajunge la o scădere a ionizării calciului, manifestările clinice consecutive variind de la senzaţia de furnicături în degetele de la mâini şi până la fenomene de tetanie severă.

Efortul compensator reprezentat de reducerea producerii de bicarbonaţi la nivelul tubilor renali are o eficienţă limitată, organismul fiind adaptat mai degrabă pentru compensarea unei acidoze decât pentru contracararea unei alcaloze.

O situaţie oarecum particulară este furnizată de intoxicaţia cu salicilaţi. Iniţial, o supradozare de salicilaţi tinde să producă o alcaloză respiratorie datorită stimulării directe a centrului respirator de către aceşti compuşi. Pe de altă parte "decuplarea" fosforilării oxidative poate duce la acidoză lactică. În astfel de situaţii se poate ajunge fie la scăderea PCO_2 şi creşterea pH (predominând alcaloza respiratorie) fie la scăderea pH (când predomină acidoza metabolică). Asocierea şi alternarea diferitelor tipuri de perturbări ale echilibrului acido-bazic se pot întâlni şi în alte situaţii. Aşa de exemplu insuficienţa hepatică însoţită de creşterea acidului lactic va favoriza dezvoltarea unei acidoze metabolice, dar hiperventilaţia produsă de excitarea centrului respirator de către diverse toxine reţinute în circulaţia ciroticului poate duce la alcaloză respiratorie. Asocierea unei acidocetoze diabetice cu o insuficienţă renală sau cu o pneumopatie este de asemeni o posibilitate de care trebuie ţinut seama. Din aceste motive, oricât de perfecţionate ar fi tehnicile de investigare a echilibrului acido-bazic, interpretarea rezultatelor trebuie făcută în context cu alte analize şi întotdeauna în lumina datelor clinice.

8.3. EXPLORAREA ECHILIBRULUI ACIDO-BAZIC

Întrucât puncţia arterială este mai neplăcută pentru pacient, explorarea echilibrului acido-bazic se poate efectua în majoritatea cazurilor şi din sânge venos. Indicaţii pentru explorări din sângele arterial pot fi deci limitate doar la câteva situaţii şi anume:

a. dacă este necesară evaluarea PO_2. În acest caz din proba de sânge arterial se vor explora şi variabilele echilibrului acido-bazic;

b. dacă se bănuieşte existenţa unor anomalii complexe respiratorii şi metabolice;

c. dacă bolnavul este respirat artificial;

d. dacă se bănuieşte o exacerbare acută a unei boli pulmonare cronice.

Determinările separate de pH şi de bicarbonaţi (aşa-zisa rezervă alcalină) sunt astăzi depăşite graţie introducerii unor analizoare automate care asigură măsurarea "in vitro" a pH precum şi a presiunilor parţiale de oxigen (PO_2) şi de bioxid de carbon (PCO_2). Pornind de la aceşti parametri măsuraţi şi de la presiunea atmosferică, analizorul calculează şi alţi parametri şi anume:

Bazele exces (BE) reprezintă cantitatea de acizi sau de baze care ar putea restabili echilibrul acido-bazic într-un litru de sânge la un PCO_2 de 40 mm Hg. Este evident că această valoare va fi negativă într-o acidoză metabolică şi pozitivă într-o alcaloză metabolică, oscilând la normali între +2,3 şi -2,3 mmoli/l (sau mEq/l). De precizat că BE evaluează doar componenta metabolică a unui dezechilibru acido-bazic.

Bazele tampon (BB) reprezintă suma anionilor tampon din sânge (proteine-, bicarbonaţi-, hemoglobină-) care pot accepta H^+. Pentru un conţinut de hemoglobină de 15 g/dl, valoarea normală a acestei variabile este de 47 mmoli/l.

Bicarbonatul actual (HCO_3^-) reprezintă conţinutul de bicarbonaţi din sângele circulant al bolnavului la PCO_2 actuală, iar valorile normale oscilează între 24-27 mmoli/l. Aceste valori adăugate la cele măsurate direct, adică pH, PCO_2 şi PO_2, la care se adaugă prin calculare automată saturaţia în oxigen (O_2 Sat) sunt de regulă suficiente pentru interpretarea echilibrului acido-bazic şi a gazelor din sânge, în lumina datelor clinice (vezi tabel 8.3).

La solicitări analizorul mai furnizează parametri adiţionali cum sunt:

Conţinutul total de CO_2 (TCO_2) o sumă a bicarbonatului actual adunat cu produsul între PCO_2 şi factorul 0,03.

Bicarbonatul standard (st HCO_3^-) reprezentând conţinutul de bicarbonaţi al sângelui dacă PCO_2 ar fi de 40 mm Hg.

Evident, în condiţii normale, bicarbonatul standard va fi egal cu bicarbonatul actual. Creşterea HCO_3^- actual, pe lângă valori normale ale st HCO_3^- indică o reacţie compensatorie într-o acidoză respiratorie, iar scăderea HCO_3^- actual faţă de valoarea st HCO_3^- este o caracteristică a reacţiilor compensatorii într-o alcaloză respiratorie. De notat că o reacţie compensatorie nu înseamnă şi o compensare izbutită.

pH standard (st pH) indică valoarea pH dacă PCO_2 ar fi de 40 mm Hg. Prin compararea acestei valori cu valoarea de pH actual se poate evalua dacă anomaliile echilibrului acido-bazic sunt condiţionate predominant metabolic sau prin mecanism respirator.

Concentraţia ionilor de hidrogen (cH^+) redă această valoare exprimată ca nmoli/l.

Gradientul alveolar/arterial al oxigenului ($AaDO_2$) prezintă utilitate pentru studiul procesului de hematoză, adică de difuzare a O_2 din alveole în sânge.

Un aparat capabil să furnizeze toţi aceşti parametri este analizorul de gaze AVL 995 furnizat de firma AVL- Austria şi având reprezentanţa în Cluj (DG Instrumente ştiinţifice SRL).

Se recomandă ca explorarea echilibrului acido-bazic să fie întregită cu dozarea **concentraţiei serice a potasiului**, avându-se în vedere interrelaţiile dintre economia potasiului şi echilibrul acido-bazic.

Este de asemenea utilă calcularea **lacunei anionice** (anion gap) care reprezintă diferenţa între concentraţia cationilor de sodiu şi suma concentraţiilor anionilor de bicarbonat şi de clor. Lacuna anionică prezintă valori normale medii de 10 mEq/l, cu oscilaţii admise intre 7 şi 15 mEq/l. (De exemplu Na = 140 mEq/l; HCO_3- = 26 mEq/l; Cl- = 100 mEq/l; Lacuna anionică = 140 -(26 + 100) = 14). O lacună anionică mai mare de 15 mEq/l indică prezenţa unui exces de anioni cum sunt acidul lactic sau corpii cetonici şi este sugestivă pentru o acidoză metabolică (4,7,11). De notat însă că în cazurile de acidoză hipercloremică (de ex. într-o acidoză tubulară renală) lacuna anionică nu este modificată. După experienţa noastră calcularea lacunei anionice nu oferă un avantaj major faţă de simpla dozare a bicarbonaţilor.

Evaluarea efortului de compensare a unui dezechilibru acido-bazic, orientează asupra intrării

în acţiune a mecanismelor de corecţie, iar acestea depind de tipul dezechilibrului. Ca urmare, calcularea efortului compensator diferă în funcţie de acest tip. Astfel intr-o **acidoză metabolică**, scăderea compensatorie a PCO_2 ar trebui să fie aproximativ egală cu produsul între scăderea faţă de normal a bicarbonatului actual şi factorul 1,3 (de ex. bicarbonat normal 25 mmoli/l; bicabonatul pacientului 12 mmoli/l; PCO_2 arterial normal 40 mm Hg; PCO_2 al pacientului 24 mm Hg; 25-12 = 13; 13 x 1,3 = **16,9**; 40 - 24 = **16**. Deci efortul compensator este în sens adecvat, iar acidoza metabolică nu este complicată de o insuficienţă respiratorie.

În cazul unei **alcaloze metabolice**, creşterea compensatorie a PCO_2 ar trebuie să fie egală cu produsul dintre creşterea faţă de normal a bicarbonaţilor şi factorul 0.6 (de ex. bolnavul prezintă HCO_3^- = 35 mmoli/l; PCO_2 = 44 mm Hg în sângele arterial; 35 - 25 = 10; 10 x 0,6 = 6; 44 - 40 = 4; 6 > 4. Deci efortul compensator nu este adecvat. Pentru o compensare adecvată PCO_2 ar fi trebuit să ajungă la 46 mm Hg.

Compensarea unei **acidoze respiratorii acute** decurge în sens adecvat dacă pentru fiecare creştere cu 10 mm Hg a PCO_2 peste valoarea normală, se ajunge la o creştere a HCO_3^- cu 1 mmol/l.

În **acidozele respiratorii cronice** un efort compensator în sens adecvat ar trebui să producă o creştere a HCO_3^- de 4 mmol/l pentru fiecare creştere de 10 mmHg a PCO_2 peste valoarea normală (de ex. : PCO_2 65 mm Hg, HCO_3^- = 34 mmol; 65 - 40 = 25; 25:10 = 2,5; 2,5 x 4 = 10 mEq/l; 34-25 = 9 mEq/l.

Întrucât creşterea actuală a HCO_3^- cu 9 mEq/l este apropiată de valoarea creşterii calculate de 10 mEq/l se consideră că efortul compensator decurge în sens adecvat.

Efortul compensator într-o **alcaloză respiratorie acută** ar implica o scădere cu 2 mEq/l a HCO_3^- pentru fiecare scădere cu 10 mm Hg a PCO_2.

În cazul unei **alcaloze respiratorii cronice** efortul compensator necesită o scădere cu 5 mEq/l a HCO_3^- pentru fiecare scădere cu 10 mm Hg a PCO_2.

De subliniat că detectarea unui efort compensator în sens adecvat, nu înseamnă şi o compensare eficientă. De fapt o compensare eficientă înseamnă o menţinere a valorilor de pH în limite normale.

8.4. PRINCIPII DE TERAPIE ÎN ANOMALIILE ECHILIBRULUI ACIDO-BAZIC

În principiu, corectarea echilibrului acido-bazic se efectuează în funcţie de etiologie şi de mecanismul de producere a anomaliei. Astfel într-o acidoză metabolică se va acţiona în primul rând asupra cauzei care a dus la acidoză tratându-se diabetul zaharat sau insuficienţa renală. În acidozele metabolice severe, se va interveni însă de urgenţă cu o terapie de echilibrare, administrându-se bicarbonaţi, având totodată grijă, ca în caz de insuficienţă renală, să nu se ajungă la o supraîncărcare a aparatului circulator.

Se consideră că pentru **corectarea unei acidoze metabolice**, afectând de regulă toate compartimentele fluidelor din organism, este nevoie să se administreze o cantitate de baze (bicarbonat) egală cu produsul dintre jumătatea greutăţii corporale în kg şi excesul de bază (de fapt deficitul de baze). De exemplu, în cazul unui subiect de 60 kg cu acidoză diabetică şi o valoare exces baze (EB) de -10 mEq/l se vor administra 30 x 10 mEq/l, respectiv 300 mEq bicarbonat (25,5 g bicarbonat de sodiu). Cu excepţia unei acidoze deosebit de severe, este mai bine să se administreze doar jumătate din cantitatea indicată de calcul si să se determine din nou variabilele echilibrului acido-bazic, urmând ca ulterior să se efectueze o nouă

corecţie.

Nu trebuie uitat că anomaliile echilibrului acido-bazic survin în cadrul unor perturbări hidroelectrolitice complexe care afecteaza volumul şi osmolaritatea lichidelor din organism. Ca urmare, terapia se va adresa şi corectării acestor perturbări. Aşa de exemplu, alcaloza metabolică din stenoza pilorică răspunde favorabil la creşterea volumului extracelular (infuzii intravenoase de NaCl) care opreşte secreţia crescută de aldosteron. Întrucât alcalozele duc la o depleţie de potasiu se va corecta şi hipopotasemia. De notat că, în cazurile în care alcaloza extracelulară este consecutivă deficitului de potasiu, echilibrul acido-bazic se corectează doar după administrarea de potasiu.

Este important de ştiut că, în cursul terapiei cu glucoză şi insulină a unei acidocetoze diabetice, se poate instala o hipopotasemie. De fapt, în perioada deficitului de insulină şi a poliuriei cauzată de diureza osmotică consecutivă glicozuriei masive se ajunge la depleţie de potasiu. Acest deficit este însă mascat de hipovolemie şi de acidoză, astfel încât în această perioadă potasemia poate fi crescută. Hipopotasemia devine evidentă abia atunci când în urma terapiei cu glucoză şi insulină se produce o reintrare a potasiului în celule, împreună cu glucoza, iar prin administrarea de fluide se corectează hipovolemia.

În cazul **bolilor pulmonare**, evoluând cu acidoză respiratorie se va încerca în primul rând ameliorarea funcţiilor respiratorii prin expectorante, mucolitice şi antibiotice, iar în caz de hipoxie se va recurge la oxigenoterapie. Este însă important de reamintit că bolnavii cu bronhopneumopatie obstructivă, hipoxia exercită un efect stimulator asupra centrului respirator şi că astfel, prin creşterea efortului de ventilaţie, se limitează creşterile excesive de PCO_2. Restabilirea rapidă a PO_2 prin oxigenoterapie la valori normale, reduce excitabilitatea centrului respirator, reducând ventilaţia, astfel încât se poate ajunge la creşteri bruşte şi periculoase ale PCO_2 care nu au timp să fie compensate prin mecanism renal, respectiv prin creşterea compensatorie a bicarbonaţilor. Aceste mecanisme pot duce astfel la o scădere marcată a valorilor pH. La aceasta contribuie şi faptul că oxihemoglobina este un tampon mai puţin eficient decât hemoglobina redusă. Ca urmare, se recomandă ca, în cursul terapiei cu oxigen ale acestor bolnavi, să se ajunga la valori ale PO_2 cu doar puţin peste 60 mm Hg (8 kPa). În acest fel se asigură o menţinere a efortului respirator, respectiv o eliminare de CO_2 şi totodată o oxigenare relativ mai bună a ţesuturilor.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1.Astrup P., Jorgensen K., Siggaard Andersen O., Engel K. The acid base metabolism. A new approach. Lancet 1960, 1: 1035-1036.

2.Blair E. Acid-base balance in bacteremic shock. Arch.Intern.Med., 1971, 127: 731-739.

3.Coen G., Manni M., Addari O., Ballanti P., Pasquali M., Chioca S., Mazzaferro S., Napoletano I., Sardella D., Bonucci E. Metabolic acidosis and osteadystrophic bone disease in predialysis chronic renal failure: effect of calcitriol treatment. Mineral and Electrolyte Metabolism 1995, 21: 375-382.

4.Emmett M., Narins R.G. Clinical use of the anion gap.Medicine, 1977, 56: 38-54.

5.Ganong W.F. Review of Medical Physiology. Lange Medical Publications, Los Altos, California, 1971.

6.Harper H.A. Review of Physiological Chemistry. 14th Edition. Lange Medicale Publications. Los Altos, California 1973.

7.Kellum J.A., Kramer D.J., Pinsky M.R. Strong ion gap: a methodology for exploring unexplained anions. J.Critical Care 1995, 10: 51-55.

8.Kraut J.A. The role of metabolic acidosis in the pathogenesis of renal osteodystrophy (Review)

Advances in Renal Replacement Therapy, 1995, 2: 40-51.
9.Narins R.G., Emett M. Simple and mixed acid-base disorders: a practical approach. Medicine, 1980, 59: 161-187.
10.Park R., Arieff A.I. Lactic acidosis Adv.Int.Med., 1980, 25: 33-68.
11.Rutecki G.W., Whittier F.C. Acid-base interpretation: five rules and how they help in every day cases. Consultant 1991, 31: 44-59.
12.Sherwin J.E., Bruegger B.B. Acid-base control and acid-base disorders. In Kaplan and Pesce (Editors). Clinical Chemistry C.V.Mosby Company. St.Louis, Toronto, Princeton, 1984, pp.387-402.
13.Wagner P.D. Diffusion and chemical reaction in pulmonary gas exchange. Physiol. Rewiews, 1977, 57: 257-312.
14.Zander R. Lebermetabolismus und Saure-basen Haushalt. Anästhesiologie, Intensivmedizin, Notfallmedizin Schmerztherapie 1995, 30, suppl. 1: 48-51.
15.Zilva J.F. The origin of acidosis in hyperlactatemia. Ann.Clin. Biochem. 1978, 15: 40-43.
16.Zilva J.E. Disorders involving changes in hydrogen ion and blood gas concentrations. In Williams and Marks (Editors). Biochemistry in clinical practice. William Heineman Medical Books LTD. London 1983, 24-43.

ÎNTREBĂRI DE CONTROL

1. Anhidraza carbonică este o enzimă aflată în:
A. Eritrocite
B. Celulele tubilor renali
C. Celulele parietale ale mucoasei gastrice
D. În toate aceste celule

2. În comparaţie cu oxihemoglobina, hemoglobina redusă este un acid:
A. Mai puternic
B. Mai slab
C. Are o constantă de disociere identică
D. Are un caracter neutru

3. În care din situatiile de mai jos nu survine o asociere a acidozei cu hipopotasemia:
A. Diarei profuze şi prelungite
B. Tratament cu acetazolamidă
C. Acidoză tubulară renală
D. Acidoză respiratorie decompensată.

4. Stabiliţi corespondenţa între tipurile de dereglare a echilibrului acido-bazic şi bolile în care se pot întâlni:

A. Acidoză respiratorie	I. Diabet zaharat cu cetonemie
B. Acidoză metabolică	II. Bronhopneumopatie cronică obstructivă
C. Alcaloză respiratorie	III. Stenoză pilorică
D. Alcaloză metabolică	IV. Afecţiuni cerebrale evoluând cu polipnee

5. Hipopotasemia poate fi:
A. O cauză a alcalozei extracelulare
B. O consecinţă a unei alcaloze prelungite
C. Ambele sunt posibile
D. Nu există interrelaţii între echilibrul acido-bazic şi economia potasiului.

6. Deficitul sever de potasiu poate determina alcaloză extracelulară, acidoză tisulară şi acidurie paradoxală prin următoarele mecanisme:
A. În lipsa competiţiei exercitate de K^+ la nivelul tubilor renali se elimină mai mult H^+ şi ca urmare creşte reabsorbţia de bicarbonaţi
B. Scăderea K^+ în celule duce la o pătrundere de H^+ în celulele organismului
C. Ambele mecanisme contribuie la explicarea anomaliilor survenite în echilibrul acido-bazic al subiecţilor cu depleţia de potasiu
D. Nu există încă o explicaţie plauzibilă.

7. Stabiliţi corespondenţa între reacţiile compensatorii şi tipul de dezechilibru acido-bazic în care survin:

A. Creşterea eliminării de CO_2 pe cale respiratorie	I. Acidoză respiratorie (Bronhopneumopatie cronică obstructivă)
B. Creşterea eliminării de H^+ prin urină şi reabsorbţia crescută a bicarbonaţilor	II. Acidoză metabolică (acidocetoză diabetică)
C. Scăderea eliminării urinare a H^+, reducerea formării de bicarbonaţi, eliminări urinare de bicarbonaţi	III. Alcaloză respiratorie (leziuni ale trunchiului cerebral)
D. Diminuarea eliminărilor de CO_2 (Mecanism limitat şi de regulă ineficient)	IV. Alcaloză metabolică (Stenoză pilorică)

8. Care din procesele de mai jos nu poate fi incriminat în patogeneza perturbărilor hidroelectrolitice survenite la bolnavii cu stenoză pilorică:
A. Scăderea volumului extracelulare şi implicit scăderea filtrării la nivelul glomerular.
B. Refluarea sucului duodenal în stomac şi pierderea de bicarbonaţi prin vărsături
C. Creşterea secreţiei de aldosteron şi deperdiţia de potasiu.
D.Creşterea secreţiei de H^+ la nivelul tubilor renali şi implicit a resorbţiei de bicarbonaţi.

9. Bolnav de 40 ani cu dispnee şi cianoză. În sângele arterial:
pH = 7,291; PCO_2 = 73; BE = +6,4; BEecf.= +7,3; BB = 54,4; HCO_3^- = 35,2; PO_2 = 55; O_2sat. = 85,5%.
a. cum definiţi starea echilibrului acido-bazic în acest caz ?
b. în ce boli se poate întâlni o astfel de situaţie ?
c. cum ar trebui să fie potasiul seric şi de ce ?
d. cum se manifestă pe acest buletin de analiză efortul compensator şi prin ce mecanism se încearcă compensarea ?
e. credeţi că ar fi indicată dozarea de $alfa_1$ antitripsină în acest caz ? De ce ?

10. Băiat de 13 ani cu poliurie. În sângele venos pH = 7,251; PCO_2 = 28,6; BE = -11; BEecf. = -11,3; BB = 35%; HCO_3^- = 12,2; PO_2 = 55; O_2sat = 80,5.

a. cum definiţi starea echilibrului acido-bazic în acest caz ?
b. în ce boli se poate întâlni o astfel de situaţie ?
c. comentaţi posibila comportare a nivelului potasiului seric în acest caz !
d. cum se manifestă pe acest buletin efortul de compensare ?

11. În acidoza metabolică din diabetul zaharat cu acidocetoză survine o scădere a bicarbonaţilor, deoarece are loc o producţie crescută de acid acetilacetic şi acid beta hidroxibutiric.

12. În acidoza respiratorie se constată o creştere marcată a PCO_2 deoarece deficitul funcţional al tubilor renali distali perturbă eliminările de H^+ şi generarea de bicarbonaţi.

13. Acidoza respiratorie decompensată se însoţeşte de hipopotasemie deoarece intre eliminările de K şi H există o competiţie la nivelul tubilor renali.

14. Diareile severe ajung să producă hipopotasemie deoarece scăderea volumului lichidului extracelular deprimă secreţia de aldosteron.

Cheia pentru întrebările 11, 12, 13, 14:

A. Ambele afirmaţii sunt corecte şi legate cauzal
B. Ambele afirmaţii sunt corecte dar nelegate cauzal
C. Prima afirmaţie corectă, a doua incorectă
D. Prima afirmaţie incorectă, a doua corectă
E. Ambele afirmaţii sunt incorecte.

9. ANOMALIILE ECHILIBRULUI HIDROELECTROLITIC

Activitatea celulelor, inclusiv procesele enzimatice, au loc în mediu apos şi depind de anumite particularităţi ale fluidelor în care aceste activităţi se desfăşoară. Organismul posedă o serie de mecanisme care asigură menţinerea cât mai constantă a caracteristicilor "mediului intern". Între aceste caracteristici sunt de menţionat:

a. presiunea osmotică;
b. concentraţia ionilor de hidrogen (vezi capitolul 8);
c. conţinutul absolut şi selectiv de cationi;
d. conţinutul cantitativ şi calitativ de coloizi (vezi capitolul 2);
e. temperatura.

La acestea se mai adaugă mecanismele care reglează volumul lichidelor din organism şi necesitatea unui aport permanent de substanţe nutritive, alături de posibilitatea îndepărtării continue din mediul intern a produşilor de degradare (2,8,9).

Perturbările echilibrului hidroelectrolitic reprezintă adeseori stări de urgenţă, iar aplicarea unor măsuri terapeutice corecte depinde de înţelegerea fiziopatologiei acestor perturbări, care pot interesa cu predominenţă fie apa, fie diverşii electroliţi (2).

9.1. APA DIN ORGANISM ŞI DISTRIBUŢIA EI ÎN DIFERITE COMPARTIMENTE

Apa îndeplineşte o serie de condiţii necesare unei bune desfăşurări a proceselor biologice, fiind cel mai bun solvent, şi având constantă dielectrică mare, ceea ce favorizează disociaţia electrolitică; totodată având o căldură specifică mare, poate înmagazina şi transporta, în volume mici, mari cantităţi de energie calorică, fără a-şi modifica prea mult temperatura. Pe lângă aceste efecte bine cunoscute, mai trebuie amintit că apa asigură plasticitatea conţinutului intestinal, uşurând tranzitul şi expulzarea materiilor fecale. Totodată, evaporarea apei, la nivelul tegumentelor şi mucoaselor, asigură un mecanism de răcorire a corpului, într-un mediu cu temperatură ridicată.

Apa constituie aproximativ 65% din greutatea corporală a unui bărbat şi în jur de 55% din greutatea corporală a unei femei, dar există mari variaţii între indivizi, conţinutul în apă fiind invers proporţional cu grăsimea corpului.

Distribuţia apei în organism este prezentată în tabelul 9.1.

Tabel 9.1.

Distribuţia apei în organismul unui bărbat tânăr. După Harper (9) completat

Sector	ml/kg greutate corporală	% din apa totală
Apa intracelulară	330	55,0
Apa extracelulară din care:	270	45,0
plasmă	45	7,5
lichid interstiţial şi limfă	120	20
apa din ţesut conjunctiv şi cartilagii	45	7,5
apa din vase	45	7,5
apa transcelulară*	15	2,5

* - Prin termenul de apă transcelulară se înţelege apa din compartimentele extracelulare, care se află mărginită de membranele celulelor epiteliale şi al cărei volum şi compoziţie este determinată de activitatea celulelor respective. Compartimentele apei transcelulare sunt heterogene în privinţa compoziţiei şi includ umoarea apoasă a ochiului, lichidul cerebrospinal, precum şi fluidele din tractul gastrointestinal, genitourinar şi nazorespirator.

9.1.1. DETERMINAREA VOLUMELOR DE APĂ DIN DIVERSELE COMPARTIMENTE

Cea mai răspândită metodă pentru determinarea volumului unui anumit compartiment se bazează pe principiul "diluţiei unui indicator", respectiv pe măsurarea concentraţiei unei substanţe adecvate (indicator) care, administrată în cantitate cunoscută, se dizolvă şi se repartizează uniform în compartimentul respectiv. Matematic acest procedeu se exprimă astfel:

$$\text{Vol. compart.} = \frac{\text{cantitatea de indicator administrată}}{\text{concentraţia indicatorului din compartiment}}$$

Apa totală se poate măsura în funcţie de diluţia suferită de unele substanţe, care, injectata intravenos, se răspândesc rapid şi uniform în toate compartimentele organismului. Se pot uriliza în acest scop izotopi ai apei ca oxidul de deuteriu sau oxidul de tritiu, precum şi antipirina sau N-acetilaminopirina.

Volumul lichidului extracelular (VLE) poate fi aflat pe baza diluţiei suferite de o substanţă indicator, care, administrată intravenos, nu pătrunde în celule, dar se răspândeşte rapid şi uniform în lichidul extracelular.

Nu s-a găsit încă o substanţă ideală sub acest aspect, dar se pot obţine evaluări suficient de exacte, utilizându-se zaharide (inulină, rafinoză, manitol) sau diverşi ioni (radiosulfat, tiosulfat, clorură de sodiu marcată fie la Cl^-, fie la Na^+). De notat că, în funcţie de indicatorul folosit, se obţin variaţii ale datelor referitoare la volumul apei extracelulare. Aceste diferenţe se datorează în primul rând gradului diferit de difuzare a substanţei indicator în lichidul interstiţial din ţesutul conjunctiv dens, din cartilagii, din

oase, precum şi în apa transcelulară (diverse secreţii). Aşa de exemplu valoarea VLE apare mai redusă, în cazul utilizării inulinei, decât atunci când se utilizează tiocianat sau clorură de sodiu (cu Cl^- marcat).

Volumul plasmei se măsoară cu ajutorul unei substanţe macromoleculare (albumină marcată cu ^{125}I) sau care se fixează pe albumină (de ex. Albastru Evans) şi care, injectate intravenos sunt reţinute mai mult timp in arborele circulator.

Volumul apei intracelulare se obţine prin diferenţa între volumul apei totale şi volumul lichidului extracelular, iar volumul lichidului interstiţial ar putea fi estimat, în principiu, prin diferenţa între volumul lichidului extracelular (VLE) şi volumul plasmei (8,9,11,17).

9.2. ELECTROLIŢII DIN ORGANISM ŞI DISTRIBUŢIA LOR ÎN DIFERITELE COMPARTIMENTE

Pentru evaluarea echilibrului hidroelectrolitic este important ca electroliţii (ionii) să fie exprimaţi în unităţi identice, care să ţină cont de sarcina electrică, de activitatea osmotică şi de reactivitatea chimică. Ca urmare se folosesc exprimările sub formă de miliechivalenţi la litru (mEq/l). Un mEq reprezintă greutatea moleculară (sau atomică) împărţită la valenţă.

În tabelul 9.2 sunt trecute valorile, în mEq/l, ale principalilor electroliţi din compartimentele lichidiene ale corpului. Aşa cum reiese din acest tabel, compoziţia lichidului interstiţial este similară cu cea a plasmei, cu singura deosebire că în privinţa anionilor, proteinele sunt, în mare parte, înlocuite cu ionul Cl^-. Pe de altă parte, compoziţia lichidului intracelular diferă, în mod evident de cea a plasmei, celulele fiind mult mai bogate în potasiu, magneziu şi fosfaţi şi mult mai sărace în Cl^- şi Na^+ (8,9).

Conform recomandărilor S.I. concentraţia electroliţilor s-ar exprima mai adecvat sub formă de mmoli/l. În cazul ionilor monovalenţi (Na^+, K^+, Cl^-) 1 mmol = 1 mEq, dar în cazul ionilor bivalenţi (Ca^{2+}, Mg^{2+}) 1 mmol = 2 mEq.

9.3. PRESIUNEA OSMOTICĂ ŞI OSMOLARITATEA FLUIDELOR DIN ORGANISM

Presiunea osmotică este un factor determinant în distribuirea apei între diversele compartimente lichidiene ale organismului. Dacă o membrană permeabilă pentru apă, dar impermeabilă pentru substanţe solvite în apă, este plasată între două compartimente de lichide, având concentraţii diferite de substanţă solvită, apa se va deplasa din compartimentul cu concentraţie mai joasă (cu relativ mai multă apă) spre compartimentul cu concentraţie mai ridicată (adică spre cel cu relativ mai puţină apă). Această mişcare a apei se numeşte **osmoză**, iar forţa de atracţie astfel exercitată constituie **presiunea osmotică**. Teoretic, presiunea osmotică a unei soluţii este proporţională cu numărul de particule solvite pe unitatea de volum a soluţiei, iar particulele dizolvate, de care depinde presiunea osmotică se numesc osmoli. În cazul substanţelor neionice solvite (de exemplu glucoza sau ureea) 1 mol = 1 osmol, dar pentru moleculele care disociază electrolitic, fiecare ion reprezintă un osmol. De exemplu un mol de NaCl va fi egal cu doi osmoli.

Tabel 9.2.

Compoziția în electroliți a plasmei și a lichidului interstițial în comparație cu cea a lichidului intracelular. Exprimare în mEq/l. După datele din literatură (11) modificat.

	Plasmă	Lichid interstițial	Lichid intracelular**
Na^+	142	145	10
K^+	4	4	156
Ca^{2+}	5*	2-3	3,2
Mg^{2+}	2*	1-2	26
Total cationi	153	153	195
Cl^-	103	116	2
HCO_3^-	28	31	8
Proteine	17	-	55
Alți anioni	5	6	130
Total anioni	153	153	195
Total electroliți	306	306	390***
Osmolaritate	292 (282-300)****	294,6****	294,6****

* Aproximativ jumătate din calciul plasmatic și cam un sfert din magneziul plasmatic se găsesc sub formă legată de proteine (neionizată și nedifuzibilă)

** Compoziția lichidului intracelular variază de la țesut la țesut. De exemplu K este mai scăzut în hematii decât în musculatură, pe când Cl^- practic nul în musculatură, poate totuși pătrunde în hematii.

*** Suma anionilor și cationilor din celule depășește pe cea din plasmă sau din lichidul interstițial, dar o bună parte a acestor electroliți este inactivă osmotic fiind legată de proteine sub formă nedisociată.

**** Valorile osmolarității în mmoli este cu ceva mai redusă decât cea obținută prin calcul (suma anionilor și cationilor), datorită interacțiunii dintre ioni (precum și prezenței proteinelor care reduc activitatea osmotică a unor electroliți. Variații ale valorilor osmolarității plasmei se datorează tocmai diferențelor în conținutul de proteine al mostrelor examinate.

Osmolaritatea este o măsură a numărului total de particule solvite pe unitatea de volum a soluției. Astfel conform calculelor, osmolaritatea dată de electroliții plasmei s-ar situa cu ceva peste 300 miliosmoli/l (vezi tabel 9.2). De notat că în condiții normale, presiunea

osmotică exercitată de uree şi glucoză este neglijabilă (aproximativ câte 5 miliosmoli pentru fiecare din aceste substanţe organice). Aceasta de datorează nu numai numărului relativ redus de particule osmotic active date de glucoză şi uree cât şi faptului că membranele celulare sunt mult mai permeabile pentru aceşti metaboliţi decât pentru Cl sau Na. Din acest motiv **presiunea osmotică efectivă** (în mm Hg), cu importanţă "in vivo" este dată mai ales de acele substanţe solvite pentru care permeabilitatea membranei este cea mai redusă.

Osmolaritatea serului poate fi măsurată în funcţie de scăderea punctului său de congelare sub cel al apei distilate (punct crioscopic). S-a stabilit că punctul crioscopic scade cu 0,01^{o}C pentru fiecare 5,4 miliosmoli. Cu osmometrele moderne care stabilesc osmolaritatea în decurs de câteva minute, valorile normale obţinute în ser oscilează între 282-298 miliosmoli, fiind cu ceva mai reduse decât cele obţinute prin calcul (suma anionilor şi cationilor în mEq/l). Astfel de diferenţe îşi găsesc explicaţia prin interacţiunea dintre ioni şi prin reducerea activităţii osmotice a unor electroliţi în prezenţa proteinelor serice.

În majoritatea cazurilor şi, bineînţeles, în absenţa unei hiperglicemii sau a unei retenţii azotate importante, osmolaritatea = 2,1 x concentraţia Na seric în mEq/l.

În caz de azotemie marcată, se poate calcula numărul de miliosmoli/l daţi de uree, împărţindu-se concentraţia ureei în mg/l la 60 (greutatea moleculară a ureei); în mod similar numărul de miliosmoli/l, daţi de glucoză se obţine împărţind glicemia în mg/l la 180 (greutatea moleculară a glucozei). Scăzând numărul de miliosmoli daţi de uree şi glucoză din valoarea osmolarităţii determinată crioscopic se obţine numărul de miliosmoli daţi de electroliţii principali şi reprezintă osmolaritatea efectivă in vivo.

Întrucât sumele electroliţilor din plasmă şi lichidul interstiţial sunt practic identice, rezultă că proteinele asigură diferenţa de presiune osmotică dintre plasmă şi lichidul interstiţial. Cu alte cuvinte , între aceste două sectoare, presiunea osmotică efectivă este dată de presiunea coloidosmotică (2,11,17). De notat că endoteliul este relativ impermeabil pentru proteine (coloizi) dar permeabil pentru electroliţi şi micromolecule.

9.4. SCHIMBURILE DE APĂ ŞI ELECTROLIŢI ÎNTRE DIVERSELE COMPARTIMENTE ALE ORGANISMULUI

Aceste schimburi sunt selective şi decurg după anumite reguli. Astfel apa radioactivă (apa grea) injectată intravenos se repartizează uniform între sânge şi lichidul interstiţial deja după 30 de secunde, dar trecerea prin membrana celulară şi echilibrarea cu apa intracelulară se realizează abia după 120 minute. Când se injectează intravenos sodiu radioactiv, echilibrul cu sodiul interstiţial se petrece în decurs de 60 minute, dar echilibrarea cu sodiul total se atinge abia după 24 de ore. Potasiul radioactiv necesită 25 de ore pentru a se echilibra cu potasiul celular.

Din cele relatate mai sus rezultă că mecanismele care asigură schimburile dintre plasmă şi lichidul interstiţial şi între acesta din urmă şi lichidul intracelular sunt diferite şi ca atare trebuie abordate în mod diferenţiat.

9.4.1. SCHIMBURILE DE APĂ ŞI ELECTROLIŢI ÎNTRE PLASMĂ ŞI LICHIDUL INTERSTIŢIAL

Aceste schimburi nu au loc la nivelul capilarelor şi sunt influenţate de următorii factori:

a. presiunea hidrostatică a sângelui în capilare;
b. permeabilitatea capilară;

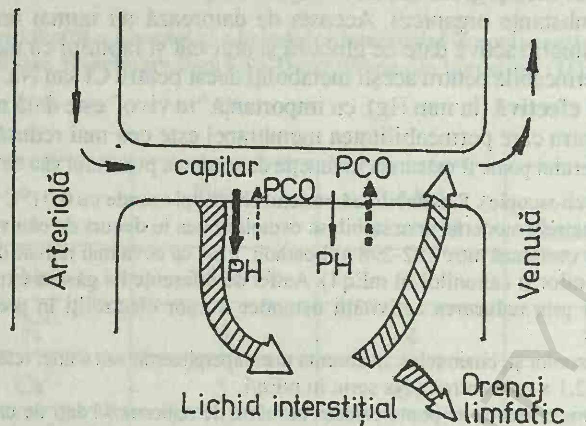


Fig.9.1. Reprezentare schematică a principalilor factori care determină schimburile între plasmă și lichidul interstițial. PH - presiune hidrostatică; PCO - presiune coloidosmotică. Grosimea săgeților corespunde mărimii relative a PH (săgeata plină) și a PCO (săgeată întreruptă). Săgețile hașurate indică direcția transferului de lichid.

c. diferențele între presiunea osmotică a plasmei și cea din lichidul interstițial (date în primul rând de presiunea coloidosmotică);
d. drenajul limfatic;
e. tensiunea în țesuturi.

Endoteliul capilarelor se prezintă ca un tub continuu, prevăzut însă cu numeroase canale intercelulare de 4-5 nm. În acest fel endoteliul capilarelor este permeabil pentru apă și substanțe micromoleculare (implicit pentru electroliți) fiind însă relativ impermeabil pentru proteine. În ansa arterială a capilarelor, gradientul de presiune hidrostatică între plasmă și lichidul interstițial este în medie de 32 mm Hg, ceea ce depășește presiunea coloidosmotică a plasmei de la acest nivel (aproximativ 22 mm Hg). Ca urmare apa și substanțele micromoleculare din plasmă difuzează spre lichidul interstițial, care, și în condiții fiziologice conține cam 0,1 g proteine/100 ml (o concentrație mult scăzută față de cea a plasmei de 6-8 g/100 ml). Pe măsură ce plasma se deplasează de-a lungul capilarului, presiunea hidrostatică scade, iar concentrația de proteine (și implicit presiunea coloidosmotică) din interiorul capilarelor crește, astfel încât la nivelul ansei venoase a capilarului, presiunea hidrostatică ajunge la 12 mm Hg, iar cea coloidosmotică din capilare devine în jur de 26-28 mm Hg. Se creează deci condiții ca, la acest nivel, o bună parte a lichidului filtrat să fie reabsorbit în interiorul capilarului sanguin.

Întrucât, în ansamblu, filtrarea depășește totuși reabsorbția, excesul de apă și de electroliți din interstițiu, împreună cu proteinele scăpate în acest lichid, se reîntorc în circulație prin drenajul limfatic (vezi fig.9.1).

În anumite părți ale corpului, ca de exemplu palmele mâinilor și musculatură, lichidul interstițial este supus unei tensiuni relativ crescute, din cauza aranjamentului spațial al țesutului conjunctiv, astfel încât acumulările de lichid sunt de regulă prevenite în aceste țesuturi. În schimb, textura laxă a țesutului conjunctiv al pleoapelor și gleznelor, favorizează creșterile de volum ale lichidului interstițial și deci formarea edemelor.

De menționat că exemplificările numerice referitoare la presiunea hidrostatică și cea coloidosmotică, arătate mai sus, nu se aplică la toate țesuturile organismului. Așa de exemplu la

nivelul ficatului şi măduvei osoase, endoteliile capilarelor, lasă între ele spaţii prin care conţinutul plasmei, inclusiv proteinele plasmatice vin în contact direct cu celulele parenchimelor (17).

9.4.2. SCHIMBURILE DINTRE LICHIDUL INTERSTIŢIAL ŞI LICHIDUL INTRACELULAR

Astfel de schimburi depind de integritatea membranei celulare, precum şi de forţe osmotice şi electrochimice, iar la rândul lor aceşti factori depind de metabolismul celulelor.

Membranele lipoidice ale celulelor sunt prevăzute cu numeroşi pori, având diametre de aproximativ 0,7 nm, care permit schimburile de apă cu lichidul extracelular. Ca urmare, modificări ale osmolarităţii lichidului interstiţial se vor repercuta asupra conţinutului în apă şi respectiv a volumului celulelor, acestea crescând în caz de hipotonie osmotică şi scăzând în caz de creştere a osmolarităţii lichidului interstiţial.

Permeabilitatea membranelor celulare pentru electroliţi este însă mult mai selectivă. Conţinutul redus de Na şi bogat în K al celulelor (vezi tab.9.2) se datorează atât unei permeabilităţi diferenţiate a membranelor celulare faţă de aceşti cationi, cât şi unui sistem de transport activ, energodependent al ionilor. Cunoscut sub denumirea de "pompa de sodiu", sistemul enzimatic al Na-K-ATP-azei asigură o expulzare a sodiului din lichidul intracelular şi la menţinerea în celule a potasiului. Mecanismele mai sus menţionate, nu exclud însă un anumit schimb de electroliţi între celule şi lichidul extracelular. Aşa de exemplu, în caz de pierderi ale potasiului din lichidul extracelular, o parte a acestui cation poate ieşi din celule (11,17).

9.4.3. PARTICULARITĂŢI ALE SCHIMBURILOR DE APĂ ŞI ELECTROLIŢI ÎN ŢESUTUL CONJUNCTIV DENS, CARTILAGII ŞI OASE

Proteoglicanii din ţesutul conjunctiv, din cartilagii şi din matricea oaselor se comportă ca nişte polianioni capabili să fixeze sodiul sub formă inactivă osmotic. De fapt, aproximativ 500 mEq (11,5 g) de sodiu se găsesc sub această formă în ţesutul conjunctiv dens, iar alte 1400-1900 mEq (32-45 g) de sodiu se află în oase. Aproximativ, doar 30% din acest sodiu participă la schimburi, în cadrul unui echilibru dinamic cu lichidul interstiţial. De notat însă că, în comparaţie cu viteza schimburilor între apa şi electroliţii din plasmă şi cei din lichidul interstiţial, schimburile între acesta din urmă şi ţesutul conjunctiv şi oase este mult mai lent.

Din punct de vedere fiziologic este important de a arăta că fixarea sodiului în ţesutul conjunctiv dens şi oase constituie unul din mecanismele tensio-osmo-reglatoare, iar pentru patologie este de semnalat că acumularea de sodiu în organism, sub formele arătate mai sus, poate surveni şi atunci când concentraţia plasmatică a acestui cation rămâne neschimbată. Prin utilizarea sodiului radioactiv (^{24}Na) s-a ajuns la stabilirea noţiuniii de sodiu schimbabil (exchangeable Na, Na_E) reprezentând acea fracţiune a sodiului care poate fi echilibrată cu sodiul radioactiv injectat intravenos (8,9). Pentru a se obţine valoarea Na_E se calculează în prealabil activitatea specifică (AS) a izotopului în plasmă conform formulei:

$$AS = \frac{^{24}Na(impulsuri\ /\ minut\ /\ litru)}{^{24}Na + Na\ neradioactiv\ (mEq\ /\ l)} \quad iar\ apoi$$

$$Na_E = \frac{^{24}Na\ injectat\ -\ ^{24}Na\ urinar}{AS\ din\ plasmă}$$

În condiţii normale valoarea Na_E este de 2800-3000 mEq (41-42 mEq/kg), pe când cantitatea totală de sodiu din organism este de 3500-4500 mEq (80-100g). O creştere a Na_E poate avea implicaţii în patologia cardiovasculară, ştiindu-se că o acumulare de sodiu în pereţii arteriolelor le face mai susceptibile la agenţii vasoconstrictori (catecolamine, angiotensina II).

9.4.4. SCHIMBURI DE APĂ ŞI ELECTROLIŢI LA NIVELUL MUCOASEI TRACTULUI DIGESTIV ŞI LA NIVELUL RINICHILOR

În organism se formează în permanenţă secreţii (lichide transcelulare) aşa cum sunt sucurile digestive, precum şi lichide de ultrafiltrare cum este urina. De exemplu, în tubul digestiv se secretă zilnic până la 10 litri de apă şi 1500 mEq de sodiu (suc gastric, pancreatic, bilă, suc intestinal), dar datorită retrorezorbţiei, fecalele conţin, în mod normal, doar 100-200 ml apă şi 10-15 mEq de sodiu. Aşa cum se vede din tabelul 9.3, diferitele secreţii digestive diferă între ele precum şi faţă de plasmă în privinţa compoziţiei în electroliţi.

Volumul secreţiei sudorale este extrem de variabil şi depinde de temperatura mediului ambiant. Caracteristic este însă caracterul hipoton al sudoarei în care concentraţiile de sodiu şi de clor sunt de abia 30-50 mEq/l şi pot ajunge la cel mult 70 mEq/l. De fapt creşteri ale concentraţiei clorului sudoral la peste 70 mEq/l şi chiar până la 120 mEq/l sugerează o mucoviscidoză, cu sau fără fibroză chistică a pancreasului.

Tabel 9.3

Volumul şi concentraţia în electroliţi ale unor secreţii digestive în comparaţie cu compoziţia plasmei. După Kleinman şi Lorenz (11).

	Volum mediu al secreţiei	Concentraţia în electroliţi (mEq/l)			
		Na^+	K^+	Cl^-	HCO_3^-
Plasmă	-	140	4	103	26
Suc gastric*	2600	8-120	1-30	8-124	0-20
Bilă	700-1000	134-156	4-6	83-110	38
Suc pancreatic	> 1000	113-153	2-7	54-95	110
Suc intestinal**	3000	72-120	3,5-7	69-127	30

* Compoziţia în electroliţi a sucului gastric variază în funcţie de aciditate. Cu cât aciditatea este mai mare cu atât este mai înaltă concentraţia în Cl^- şi mai joasă concentraţia în Na+ şi HCO_3^-

** Datele privind sucul intestinal se referă la mostre obţinute prin sonda Miller-Abbot, evitându-se amestecul cu bila şi sucul pancreatic.

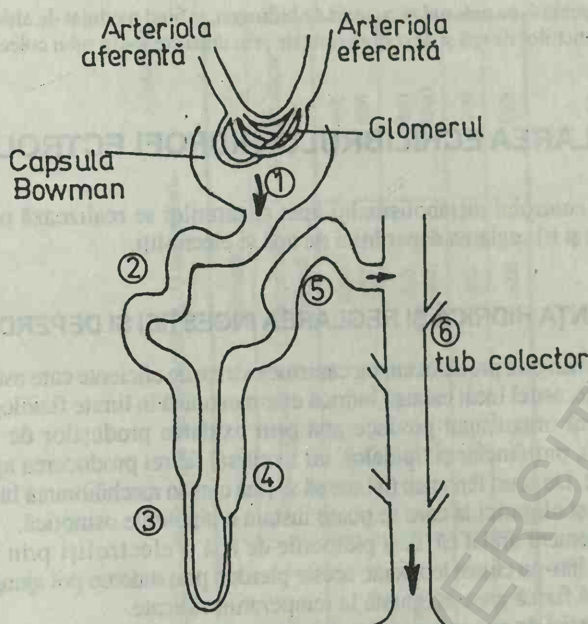


Fig.9.2. Componenţa nefronului şi intervenţia diferitelor sale segmente în formarea urinei şi în menţinerea echilibrului hidromineral.
1) - filtrarea glomerulară şi formarea unui ultrafiltrat;
2) - la nivelul tubului contort proximal reabsorbţia isoosmotică a apei şi sărurilor;
3) - la nivelul ramurei descendente a ansei Henle, reabsorbţia selectivă a apei şi implicit creşterea osmolarităţii fluidului intratubular;
4) - pe parcursul ramurei ascendente a ansei lui Henle (porţiunea mai groasă) are loc o reabsorbţie selectivă a NaCl, iar fluidul tubular devine hipotonic;
5) - la nivelul tubului contort distal reabsorbţie a apei în cadrul unui proces dependent de hormonul antidiuretic şi reabsorbţia sodiului la schimbul cu ionii de hidrogen şi cu potasiul (proces de stimulat de aldosteron);
6) - la nivelul tubilor colectori se continuă ajustarea hormono-dependentă a reabsorbţiei de apă şi de sodiu.

Cele mai importante eliminări de apă şi electroliţi survin însă la nivelul rinichilor, unde zilnic se filtrează 200 litri de apă şi aproximativ 30000 mEq de sodiu. Datorită însă unui proces de retrorezorbţie tubulară extrem de eficient, se pierd zilnic prin urină doar 1-1,5 l de apă şi 100 mEq de sodiu. De fapt, eliminările urinare de sodiu variază în limitele fiziologice de 40-220 mEq/24 ore în funcţie de consumul alimentar de sare.

Aproximativ 70% din filtratul glomerular se reabsoarbe isoosmotic în tubul proximal din cortexul rinichilor. Pe parcursul trecerii sale prin ramura descendentă a ansei lui Henle, restul de filtrat glomerular vine în contact cu insterstiţiul hiperton al medularei rinichilor şi astfel se reabsoarbe selectiv apa, iar filtratul din tubii renali devine mai concentrat în electroliţi. Ajuns în ramura ascendentă a ansei lui Henle, care este relativ impermeabilă pentru apă, dar care asigură o reabsorbţie activă a sodiului şi clorului, filtratul devine hipoton atunci când trece în tubul contort distal. Acest segment al tubilor renali, fiind însă permeabil pentru apă, în prezenţa hormonului antidiuretic, se asigură o nouă retroresorbţie a apei şi o concentrare a urinei. Tot în tubul contort distal se mai reabsoarbe o parte din sodiul filtrat, acest pro-

ces efectuându-se la schimb cu potasiul şi cu ionii de hidrogen, şi fiind modulat de aldosteron (6,11,17). Ajustarea finală a cantităţilor de apă şi de sodiu excretate prin urină are loc în tubii colectori (vezi fig.9.2).

9.5. REGLAREA ECHILIBRULUI HIDROELECTROLITIC

În principiu, controlul metabolismului apei şi sărurilor se realizează prin: a) reglarea ingestiei de lichide şi b) reglarea deperdiţiei de apă şi electroliţi.

9.5.1. BALANŢA HIDRICĂ ŞI REGLAREA INGESTIEI ŞI DEPERDIŢIEI DE APĂ

Organismul uman este prevăzut cu mecanisme extrem de eficiente care asigură înlocuirea pierderilor de lichide, astfel încât balanţa hidrică este menţinută în limite fiziologice (vezi tabel 9.4). De subliniat că organismul produce apă prin oxidarea produşilor de metabolism ai hidraţilor de carbon, proteinelor şi lipidelor, iar în cursul febrei producerea apei de oxidaţie este evident crescută. De acest fenomen trebuie să se ţină cont în reechilibrarea hidroelectrolitică a bolnavilor febrili şi oligurici la care se poate instala o hipotonie osmotică.

Trebuie de asemeni arătat că, deşi pierderile de apă şi electroliţi prin sudoare, sunt minime, în repaos şi într-un climat temperat, aceste pierderi prin sudoare pot ajunge la 2 litri/oră, în condiţii de muncă fizică grea, efectuată la temperaturi ridicate.

Reglarea ingestiei de apă se exercită prin senzaţia de sete. Creşterea osmolarităţii lichidului extracelular, (creşterea concentraţiei de sodiu) determină o ieşire a apei din neuronii zonelor din hipotalamus care conţin centrii reglării ingestiei de apă ceea ce duce la apariţia senzaţiei de sete. Stimularea acestor centri se realizează şi ca urmare a scăderii volumului lichidului intravascular, respectiv prin impulsuri venite de la receptorii de volum din atriile inimii, vena cavă inferioară şi venele pulmonare (receptori la distensie) precum şi de la baroreceptorii din aortă şi arterele carotide. Angiotensina II circulantă şi injectarea cu caracter experimental de agenţi colinergici în hipotalamus, evocă de asemeni senzaţia de sete.

Aceiaşi stimuli, respectiv creşterea osmolarităţii lichidului extracelular, scăderea volumului sângelui circulant şi angiotensina II determină şi o **stimulare a centrilor care reglează eliminările de apă**, aflaţi tot în hipotalamus dar într-o arie diferită de cea în care se află centrii care controlează ingestia de apă. Excitarea centrilor cu rol în reglarea eliminărilor de apă se soldează cu eliberarea de hormon antidiuretic (ADH). Acest hormon cu structură nonapeptidică eliberat din neurohipofiză, cunoscut şi sub denumirea de vasopresină, acţionează asupra tubilor contorţi distali şi a tubilor colectori, determinând retrorezorbţia apei şi reducerea eliminărilor urinare de apă. Efectele ADH asupra tubilor renali contorţi distali şi colectori se traduce prin creşterea permeabilităţii lor pentru apă, procesul fiind mediat prin sistemul adenilat-ciclază-AMP ciclic. Ajuns în circulaţie ADH este relativ rapid inactivat la nivelul rinichilor şi ficatului, având un timp de înjumătăţire în plasmă de aproximativ 18 minute. De notat că eliberarea ADH poate avea loc şi sub acţiunea morfinei, nicotinei şi barbituricelor, iar emoţiile şi senzaţiile dureroase determină acelaşi efect. Aşa cum se va arăta pe parcursul acestui capitol, o serie de stări patologice se asociază cu o creştere a secreţiei de ADH, neadecvată necesităţilor (5,14,17).

Mecanismele fiziologice de reglare a metabolismului apei şi a presiunii osmotice sunt reprezentate schematic în fig.9.3.

Ca un corolar la cele arătate mai sus, trebuie menţionat că senzaţia de sete poate apare şi în afară de mecanismele menţionate, de exemplu în caz de uscăciune a mucoasei bucale cauzată prin

Tabel 9.4.

Echilibrul hidric al unui subiect normal în diferite condiţii. Valorile exprimate în ml/24 ore. După datele din literatură (9,11) completate.

	Aport				Eliminări		
	Condiţii normale	La temperatură ridicată	La efort intens		Condiţii normale	La temperatură ridicată	La efort intens
Apa ingerată	1200	2200	3400	Urină Plămâni	1400 450	1200 350	550 600
Apa din alimente	1100	110	1150	Piele (prespiraţie) Sudoare	450 100	450 1400	450 3300
Apa de oxidaţie *	300	300	450	Scaun	200	200	200
Total	2600	3600	5100	Total	2600	3600	5100

Apa de oxidaţie creşte în cursul bolilor febrile şi în genere în caz de accelerare a metabolismului

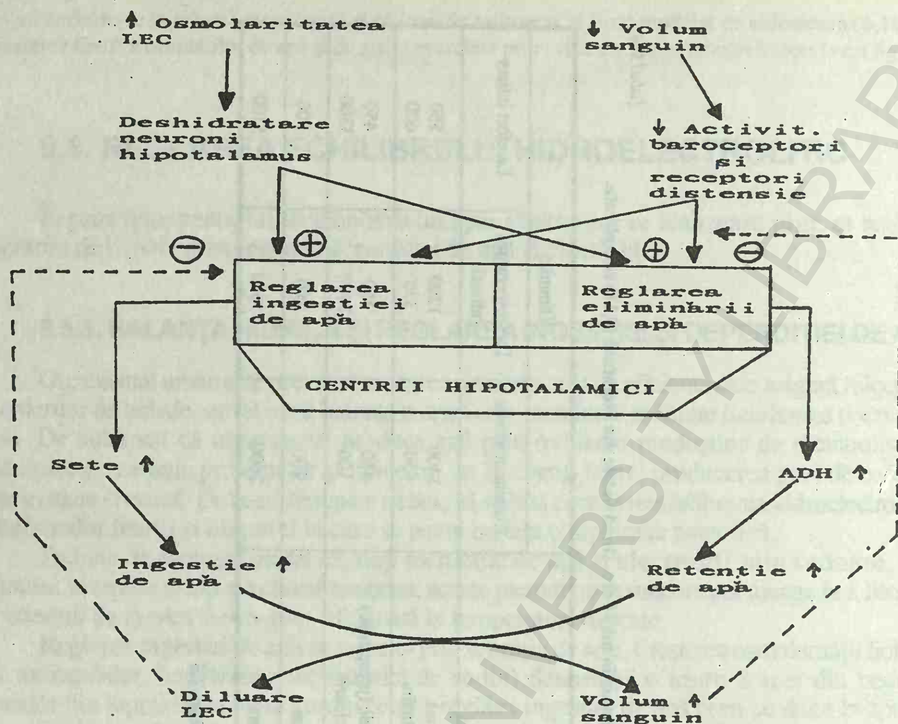


Fig.9.3. Mecanisme de reglare a osmolarităţii lichidului extracelular (LEC) cuplate cu reglarea volumului sângelui circulant. ADH = hormon antidiuretic; linia întreruptă însoţită de semnul "Θ" indică un efect de feed-back negativ.

administrarea de atropină. Pe de altă parte, ingestia de apă, mai ales rece, poate produce o potolire a senzaţiei de sete, înainte ca apa ingerată să se absoarbă şi bineînţeles înainte de refacerea osmolarităţii lichidului extracelular şi a volumului sanguin. Acest efect se datorează umectării mucoasei bucale şi distensiei tubului digestiv. De fapt simpla distensie a stomacului, cu un balon gonflabil, produce o potolire a senzaţiei de sete pe timp de până la 30 de minute. Astfel de mecanisme previn o suprahidratare bruscă şi fac ca individul însetat să-şi refacă progresiv nevoile de apă (5).

9.5.2. REGLAREA DEPERDIŢIEI DE SODIU

Reglarea conţinutului de sodiu al organismului, este în strânsă legătură cu reglarea tensiunii arteriale şi cu echilibrul potasiului, iar principalul, sau în orice caz cel mai bine studiat, mecanism de control este reprezentat de **sistemul renină-angiotengină-aldosteron**.

Renina este o enzimă proteolitică, stocată şi secretată de către celulele aparatului juxtaglomerular din rinichi (macula densa). Localizarea cu totul particulară a acestor celule, le permite sesizarea variaţiilor presiunii arteriale din rinichi, precum şi osmolaritatea, respectiv conţinutul de sodiu al fluidului din interiorul tubilor contorţi distali. De fapt,scăderea presiunii de perfuzie a rinichiului şi scăderea concentraţiei de sodiu din tubii contorţi distali, reprezintă principalii stimuli pentru eliberarea în circulaţie a reninei. La acesti stimuli se adaugă

impulsurile venite pe calea nervilor simpatici, care acţionează independent de modificările fluxului sanguin.

Ajunsă în circulaţie, renina acţionează asupra unei glicoproteine produsă în ficat, denumită angiotensinogen şi eliberează din molecula acestuia un decapeptid, încă inactiv, cunoscut sub denumirea de angiotensina I. La rândul său angiotensina I suferă un proces de clivare care duce la îndepărtarea a doi aminoacizi şi se transferă într-un octapeptid, angiotensina II. Procesul mai sus arătat se petrece sub acţiunea enzimei de conversie aflată în sânge şi în majoritatea ţesuturilor, dar mai ales în plămâni şi în rinichi.

Angiotensina II are timp de înjumătăţire în plasmă extrem de redus, de doar 1-2 minute, dar în acest scurt interval de timp exercită efecte însemnate, producând vasoconstricţie prin acţiunea directă asupra musculaturii netede a arteriolelor şi prin activarea sistemului nervos simpatic.

Totodată angiotensina II stimulează centrii hipotalamici care reglează senzaţia de sete şi a celor care duc la eliberarea de hormon antidiuretic (ADH), iar la nivelul celulelor stratului glomerular al corticosuprarenalelor, determină o importantă secreţie de aldosteron (7,11,17). Secreţia acestui hormon mineralocorticoid este stimulată şi de creşterea nivelului potasiului din plasmă. Întrucât s-au semnalat creşteri ale secreţiei de aldosteron, în stările de anxietate, traume psihice, precum şi după intervenţii chirurgicale s-a sugerat şi un rol al stimulilor diencefalohipofizari. Este însă greu de evaluat importanţa acestor stimuli faţă de cei reprezentaţi de angiotensina II şi de creşterea potasemiei.

Nivelul plasmatic bazal de aldosteron este de abia 0,1 μg/l, iar timpul său de înjumătăţire în plasmă de 3-6 ore; hormonul este captat şi inactivat în ficat, produşii săi de metabolism eliminându-se apoi prin urină sub formă de glicurono- sau sufoconjugaţi.

Principalul loc de acţiune a aldosteronului este reprezentat de rinichi şi anume la nivelul tubilor contorţi distali şi colectori. Mecanismul de acţiune al acestui hormon constă din inducerea enzimelor implicate în controlul schimburilor de ioni la nivelul membranelor celulare (ca de exemplu Na-K-ATP-aza). Ca urmare se favorizează reabsorbţia de sodiu şi eliminările de potasiu şi de hidrogen-ioni. Atunci când, în urma acestor efecte, se ajunge la o creştere a sodiului plasmatic şi implicit a osmolarităţii, intră în joc mecanismele de reglare a aportului şi deperdiţiei de apă, ceea ce duce la refacerea volumului lichidului extracelular (vezi fig.9.4).

Efecte mai puţin importante ale aldosteronului constau în scăderea eliminărilor de sodiu în salivă şi sudoare. Se mai consideră că acest hormon ar creşte apetitul pentru sare.

Mecanismele arătate în figura 9.4 nu sunt în măsură să explice pe deplin complexitatea proceselor care reglează echilibrul hidromineral şi, de fapt, există indicii conform cărora reglarea eliminărilor de sodiu s-ar efectua, într-o oarecare măsură, chiar şi independent de aldosteron. Aşa de exemplu, cantitatea de sodiu reabsorbită, încă de la nivelul tubilor contorţi proximali, creşte în caz de reducere a fracţiei de filtrare glomerulară, iar o concentraţie mărită a presiunii coloidosmotice în capilarele sanguine peritubulare, duce la o sporire a retrorezorbţiei tubulare de sodiu. O importanţă crescândă se acordă în ultimul deceniu, unui aşa-zis "factor" (hormon) natriuretic atrial.

Existenţa unui astfel de factor a fost bănuită, atunci când subiecţii supuşi unei terapii cu doze fixe de cortisol şi mineralocorticoizi, pentru boala Addison sau suprarenalectomizaţi bilateral, erau totuşi capabili să-şi moduleze eliminările urinare de sodiu, crescându-le în urma unei încărcări cu clorură de sodiu (12). Ulterior s-a constatat că injectarea intravenoasă a unui omogenat atrial produce la şobolan o marcată diureză şi natriureză (4) şi s-a evidenţiat prezenţa unui factor natriuretic în miocitele atriilor de mamifere. S-a reuşit chiar izolarea şi purificarea unor "atriopeptide" cu efect natriuretic, cărora li s-a stabilit secvenţa în aminoa-

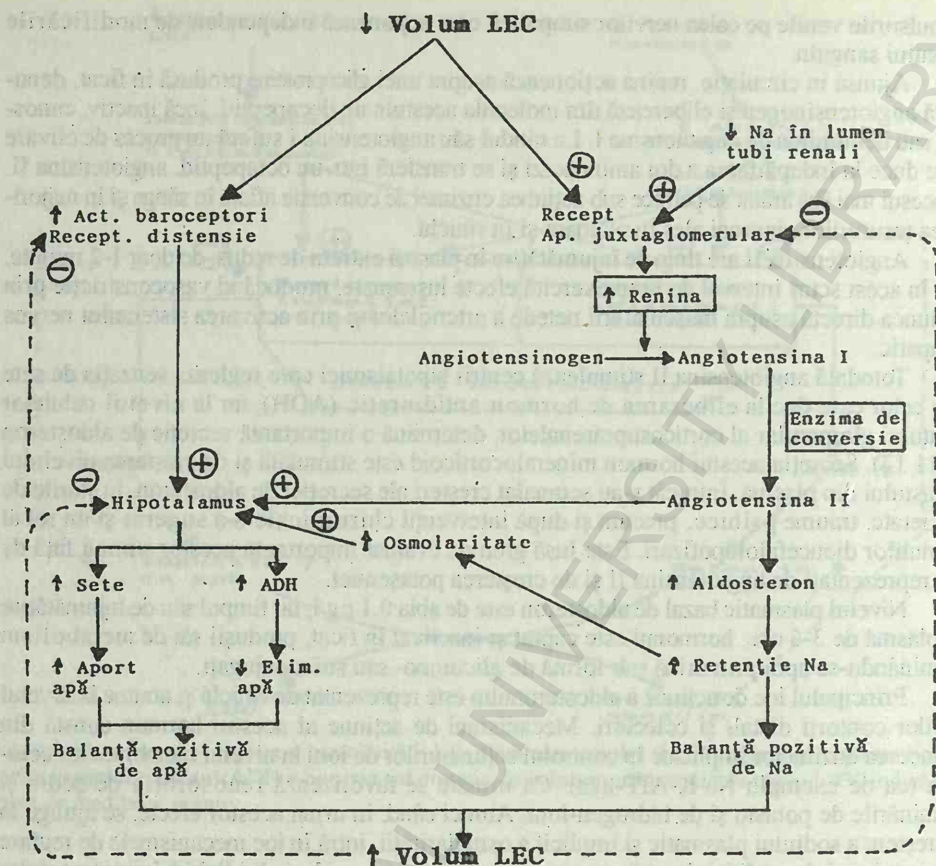


Fig.9.4. Reprezentare schematică a principalelor mecanisme implicate în reglarea conţinutului de sodiu al organismului, cuplate cu menţinerea volumului lichidului extracelular (LEC); linia întreruptă însoţită de semnul "Θ" indică efect inhibitor. În schemă nu sunt introduse efectele hormonului (factorului) natriuretic atrial.

cizi (10). Eliberarea în circulaţie a factorului natriuretic este stimulată de creşterea presiunii intraatriale, precum şi de un regim hipersodat. Trecut în circulaţie, peptidul natriuretic acţionează prin intermediul unor receptori specifici şi inhibă secreţia de aldosteron. Se consideră că factorul (peptidul) natriuretic atrial ar acţiona şiasupra tubilor renali (tot prin intermediul unor receptori) inhibând Na-K-ATP-aza şi ducând astfel la limitarea penetrării sodiului din fluidul tubular in celulele tubilor renali. Se ajunge astfel la reducerea reabsorbţiei de sodiu şi la creşterea eliminărilor urinare ale acestui cation. Aşadar, conform datelor actuale, peptidul natriuretic atrial este un hormon de origine cardiacă, care se eliberează ca răspuns la distensia atriilor şi determină creşterea excreţiei de sodiu, inhibă sistemul renină-angiotensină-aldosteron şi modulează tensiunea arterială (16).

Există indicii că deficite în producerea şi alterarea acestui factor ar putea fi implicate în patogeneza hipertensiunii arteriale şi a insuficienţei cardiace congestive (13,15). Detalii asupra multiplelor efecte ale diverselor peptide natriuretice provenite din atrii şi din alte ţesuturi pot fi găsite în volumul "*Actualităţi de farmacologie şi fiziopatologie*" (3).

9.6. ANOMALII ALE ECHILIBRULUI HIDROELECTROLITIC

Astfel de anomalii se datorează în majoritatea cazurilor unor pierderi excesive, dar aportul inadecvat poate contribui la instalarea şi mai ales la agravarea dezechilibrelor.

Aportul excesiv de apă şi/sau de sodiu are rareori importanţă clinică dacă mecanismele homeostatice funcţionează normal. Pe de altă parte modificări patologice ale secreţiei de hormoni cu rol în reglarea echilibrului hidroelectrolitic produc alterări importante ale osmolarităţii şi ale volumului lichidelor din diversele compartimente.

În majoritatea cazurilor, anomaliile interesează atât apa cât şi sodiul. Există însă şi situaţii în care perturbarea afectează cu predominenţă unul din cele două componente amintite. Anomaliile interesând echilibrul potasiului prezintă particularităţi şi consecinţe specifice.

9.6.1. PIERDEREA ÎN EXCES A APEI

Această anomalie se poate instala în următoarele situaţii:

a. secreţie sudorală excesivă (sudoarea fiind hipotonă);
b. vărsături abundente (sucul gastric fiind mai sărac în sodiu decât plasma);
c. pierderi prin scaune fluide cu un conţinut sărac în sodiu (de regulă în gastroenteritele sugarilor);
d. diureză exagerată cauzată de un deficit de hormon antidiuretic (diabet insipid);
e. diureză exagerată prin lipsă de răspuns a tubilor renali la stimulul hormonal (diabet insipid nefrogenic moştenit sau câştigat în cadrul unei pielonefrite);
f. polipnei intense şi prelungite survenite în pneumonii, acidoză sau leziuni ale truchiului cerebral, care pot duce la pierderi de apă pe cale respiratorie.

La aceste mecanisme, date de pierderea în exces a apei, se adaugă anumite stări patologice care limitează ingestia de apă. Între acestea sunt de semnalat, afecţiuni buco-faringiene, lipsă de răspuns la semnalul dat de sete (bolnavi comatoşi), mai rar absenţa setei (adipsie) consecutivă unor leziuni ale hipotalamusului şi lipsa aportului de apă în cazul bolnavilor imobilizaţi şi fără o îngrijire adecvată sau în condiţii particulare (pierduţi în deşert). Din păcate, de multe ori pierderile în exces se asociază cu aportul inadecvat.

Deficitul de apă în lichidul extracelular duce la creşterea presiunii osmotice şi implicit la ieşirea apei din celule. Se ajunge astfel la manifestările caracteristice deshidratării celulelor: senzaţie intensă de sete, uscăciunea mucoasei buco-faringiene, pierderea turgorului tegumentelor, lipsa sudoraţiei, hipotonia globilor oculari şi adesecori febră.

Atunci când mecanismele homeostatice sunt păstrate, ele intervin în mod adecvat declanşând secreţia de hormon antidiuretic şi ca urmare o creştere a reabsorbţiei tubulare de apă şi oligurie. Este însă evident că acest mecanism nu se va declanşa în caz de diabet insipid, când poliuria persistă în pofida tendinţei la deshidratare. De notat că deşi, ca urmare a deshidratării, concentraţia plasmatică a sodiului este crescută, secreţia de aldosteron este

stimulată datorită reducerii volumului lichidului extracelular, iar acest hiperaldosteronism secundar poate agrava hipernatremia.

Principalele constatări de laborator sunt hemoconcentraţia (creşterea hematocritului), hiperproteinemie, hipernatremie şi moderată creşterea ureei sanguine. Urina este în cantitate redusă (excepţie făcând diabetul insipid). De regulă urina este concentrată, având un conţinut crescut de uree, dar sodiul urinar poate fi scăzut în cazurile în care s-a declanşat o secreţie de aldosteron.

Toate manifestările clinice şi de laborator cedează rapid dacă se administrează cantităţi corespunzătoare de apă. Când aportul de apă întârzie, iar pierderile de apă persistă, se instalează o stare de letargie, hipotensiune şi şoc. Fenomenele devin extrem de severe când deperdiţia de apă depăşeşte 15% din greutatea corpului.

9.6.2. DEFICITUL DE SODIU

O dietă normală asigură un aport de 50-150 mmoli de sodiu, dar sodiul secretat zilnic în tractul digestiv depăşeşte de 5-6 ori aportul alimentar. Aproape tot sodiul secretat în tractul digestiv se reabsoarbe, iar o cantitate, aproximativ echivalentă cu cea ingerată, se elimină prin urină. Doar mici cantităţi de sodiu se elimină, în mod normal, prin fecale şi sudoare.

Depleţia de sodiu apare, de regulă, ca urmare a pierderilor de secreţii gastrointestinale (mai ales diarei profuze) sau prin pierderi urinare cauzate de boli renale sau endocrine (insuficienţă suprarenală, hipoaldosteronism). Diureza osmotică cauzată de glicozuria excesivă din diabetul zaharat decompensat se poate asocia cu importante pierderi urinare de sodiu.

Pierderi urinare de sodiu se pot întâlni, în perioada poliurică de reluare a diurezei, la un bolnav cu insuficienţă renală acută. Deşi sudoarea este relativ săracă în sodiu, pierderile acestui cation pe o astfel de cale pot deveni importante atunci când sudoraţia este excesivă.

De notat că, în toate situaţiile menţionate mai sus, se pierd, de fapt, atât sodiul cât şi apa. Atunci când aceste pierderi sunt înlocuite doar printr-un aport de apă, fără a se administra şi săruri, se poate ajunge la un deficit de sodiu şi la scăderea marcată a osmolarităţii lichidului extracelular. S-ar părea deci, că în condiţiile arătate mai sus, deficitul sever de sodiu apare ca urmare a necunoaşterii echilibrului hidroelectrolitic, sau a neglijenţei serviciilor de reanimare, fiind un exemplu tipic de perturbare indusă iatrogenic. Tratamentul cu diuretice (în special saluretice), restricţia de sodiu, aplicate bolnavilor cu insuficienţă cardiacă, pot reprezenta de asemenea cauze ale deficitului de sodiu.

Mobilizarea sodiului din ţesutul conjunctiv dens şi din oase ar putea compensa, pe timp limitat, pierderile de sodiu din lichidul extracelular, iar oprirea secreţiei de hormon antidiuretic (ADH) şi creşterea eliminărilor urinare de apă pot contribui la menţinerea osmolarităţii. Atunci însă când se ajunge la o scădere a volumului extracelular, se produce o stimulare a secreţiei de ADH prin mecanismele arătate anterior (vezi fig.9.3 şi 9.4). Aşa dar, în stadiile avansate ale depleţiei de sodiu, menţinerea osmolarităţii este sacrificată în scopul menţinerii volumului plasmatic. Scăderea osmolarităţii lichidului interstiţial va duce la deplasarea apei spre celule, determinând o scădere şi mai accentuată a volumului lichidului extracelular, precum şi apariţia hiperhidratării celulare. Hiperhidratarea celulelor cerebrale se traduce prin cefalee, confuzie şi chiar prin convulsii, iar senzaţia de sete lipseşte. Aceste manifestări clinice depind atât de gradul de scădere a sodemiei cât şi de viteza cu care se instalează o astfel de scădere (2,8,9).

În cazurile în care depleţia de sodiu s-a instalat brusc, fenomenele cerebrale amintite mai sus sunt deosebit de pregnante realizând "intoxicaţia cu apă". Simptomele sunt mai puţin ful-

minante când depleția de sodiu are un caracter cronic și când se instalează crampe musculare, greață, vomă și o stare de letargie.

Cunoașterea condițiilor care duc la deficit de sodiu, precum și a manifestărilor clinice cauzate de acest deficit, este cu atât mai importantă cu cât datele de laborator nu sunt întotdeauna concludente. De fapt, în stadiile inițiale se constată doar o hemoconcentrație și o creștere moderată a ureei în sânge, iar hiponatremia și scăderea osmolarității apar abia mai târziu când și fenomenele clinice sunt mai exprimate. De notat că nivelul sodiului plasmatic nu reflectă în mod adecvat gravitatea depleției de sodiu. O evaluare mai corectă s-ar putea obține prin măsurarea sodiului schimbabil (Na_E) dar această explorare nu poate fi efectuată de rutină. Mai accesibilă este determinarea sodiului urinar care prezintă o scădere marcată și precoce (sub 40 mEq/24 h), ca expresie a secreției compensatorii de aldosteron. Evident, scăderea sodiului urinar nu va fi detectată în cazurile în care de depleția de sodiu s-a datorat unei insuficențe suprarenale, sau unei lipse de răspuns a tubilor renali la aldosteron. Pentru boala Addison este caracteristică asocierea hiposodemiei cu hipovolemia și hiperpotasemia.

Tratamentul de corecție al deficitului de sodiu constă în administrarea de NaCl pe cale orală sau intravenos, de preferință sub formă de soluții izotonice.

9.6.3. EXCESUL DE APĂ (INTOXICAȚIA CU APĂ)

Creșterea apei totale din organism, neasociată cu o creștere a sodiului total survine atunci când mecanismele homeostatice sunt depășite de aportul excesiv de apă, sau în caz de anomalii ale mecanismelor care reglează eliminările de apă. Ingestia excesivă de apă survine rar, dar ea a fost semnalată în cazuri de polidipsie psihogenă asociată unor boli psihice sau în urma unor leziuni ale hipotalamusului anterior.

Retenția excesivă de apă survine mai des, ca urmare a deficieței mecanismelor homeostatice și anume:

a. în cazul administrării unui exces de lichide hipotone la un bolnav cu oligurie;
b. în prezența unui exces de hormon antidiuretic (ADH) asociat cu adminstrarea de lichide hipotone.

Excesul de ADH, sau așa zisul **sindrom de secreție nepotrivită de hormon antidiuretic** (syndrome of inappropriate antidiuretic hormone secretion, SIADH) poate surveni în numeroase stări patologice, care sunt redate sinoptic în tabelul 9.5.

Diagnosticul acestui sindrom se bazează pe următoarele criterii:

1.Hiponatremie (sub 120 mEq/l și chiar sub 100 mEq/l) și o scădere corespunzătoare a osmolarității.
2.Absența datelor clinice care să sugereze o posibilă depleție a volumului lichidului extracelular.
3.Concentrația (densitatea) urinei este mai mare decât cea care ar trebui să corespundă osmolarității mult scăzute a plasmei.
4.Persistența eliminărilor urinare de sodiu (în jur de 80 mEq/zi) în pofida hiposodemiei.
5.Funcție renală păstrată și lipsa retenției azotate.
6.Funcție normală a suprarenalelor.
7.Dozări radioimunologice de ADH evidențiază valori evident crescute ale acestui peptid. Deși aceste dozări aduc un plus de precizie, ele nu sunt absolut necesare, implicând dificultăți tehnice, pe când determinarea sodemiei și osmolarității pot fi efectuate în mod rutinier.

Mecanismele prin care se ajunge la dezvoltarea SIADH sunt variate și, în unele cazuri, încă destul de obscure. Astfel, în excesul de apă însoțind unele tumori maligne s-a incriminat o producere autonomă și ectopică de ADH în celulele tumorale (vezi tabel 9.5).

Tabel 9.5.

Cauze ale sindromului de secreţie nepotrivită de hormon antidiuretic (SIADH). După datele din literatură (5,11,17).

Secreţie autonomă ectopică de ADH:	carcinom bronhial, carcinom al pancreasului, limfosarcom, adenocarcinom al duodenului, carcinom al suprarenalei, carcinom de prostată, carcinom al ureterului, timom.
Afecţiuni cerebrale iritative care determină o secreţie crescută de ADH:	meningite (piogenice sau tuberculoase), encefalite, abces cerebral, tumori cerebrale, hemoragii subarahnoidiene, hematom subdural, hidrocefalie, traumatisme cu fracturi craniene, accident vascular cerebral, porfirie acută intermitentă.
Afecţiuni pulmonare şi ale cutiei toracice:	tuberculoză pulmonară, pneumotorace, bronhopneumopatie cronică obstructivă, pneumonii, ventilaţie artificială.
Infecţii:	peritonite, septicemie, infecţii urinare
Alte stări patologice:	boala Hodgkin, leucemie acută mieloidă, stress chirurgical.
Medicamente	morfină, ciclofosfamidă, vincriştină, clorpropamidă, barbiturice, carbamazepină, metformin.

Leziuni cerebrale iritative pot duce la o secreţie crescută de ADH chiar şi în lipsa stimulilor adecvaţi (reprezentaţi de hipertonia osmotică şi de scăderea volumului lichidului extracelular).

Într-o serie de afecţiuni pulmonare se incriminează o reducere a afluxului de sânge spre atriul stâng, astfel încât receptorii atriali de distensie percep, în mod eronat, o reducere a volumului plasmatic, deşi volumul lichidului extracelular este normal sau mai degrabă crescut. Acelaşi mecanism de reducere a afluxului de sânge spre atrii şi de "hipovolemie regională" survine şi în cazurile de insuficienţă a inimii drepte.

La aceste mecanisme se adaugă infecţiile care pot declanşa o hipersecreţie de ADH în cadrul reacţiei de fază acută. De altfel, frica, traumatismele, anestezia şi intervenţiile chirurgicale, precum şi o serie de medicamente (vezi tabel 9.5) duc la o creştere a activităţii ADH, stimulându-i secreţia, prelungindu-i persistenţa în plamă sau accentuându-i efectele asupra rinichilor.

De notat că în pofida hiponatremiei, lipseşte tendinţa de compensare printr-un efect mediat de aldosteron. Se presupune că o creştere a volumului plasmatic inhibă sistemul renină-angiotensină-aldosteron, iar, pe de altă parte, excesul de ADH ar anula efectele aldosteronului la nivelul tubilor renali. Manifestările clinice ale intoxicaţiei cu apă sunt date, ca şi în cazul deficitului de sodiu, de o hiperhidratare a sistemului nervos central. Procesele descrise mai sus atrag atenţia asupra pericolului reprezentat de administrarea în exces a unor lichide hipotone la bolnavi traumatizaţi, precum şi asupra riscului asocierii oxitocinei (cu efect antidiuretic) cu perfuziile unor cantităţi mari de lichide hipotone (5,11,17).

9.6.4. EXCESUL DE SODIU

Această anomalie se întâlneşte doar rareori în formă pură (adică neasociată cu retenţia de apă). Ea poate totuşi surveni după infuzii intravenoase de soluţii hipertone de $NaHCO_3$ date unor bolnavi oligurici. Hipersodemii până la 170 mEq/l s-au descris şi după clisme cu soluţii saline hipertone, precum şi la naufragiaţii care au ingerat apă de mare, sau după o aşa-zisă "cură de sete" aplicată în mod abuziv bolnavilor cu glomerulonefrită acută.

Pentru a se putea afirma cu certitudine existenţa unui exces de sodiu şi nu doar o hipernatremie relativă consecutivă deshidratării este nevoie să se demonstreze o creştere a valorii sodiului schimbabil (Na_E). De regulă, în excesul de sodiu se ajunge la hipertonie osmotică şi la deshidratare celulară, întocmai ca şi în cazurile de pierdere în exces a apei, iar senzaţia de sete este extrem de accentuată. De notat că terapia de corecţie a unei hipersodemii prin administrarea orală sau intravenoasă de lichide hipotone, trebuie adminstrată cât mai curând şi progresiv. Dacă hipersodemia a persistat timp de mai multe zile, iar refacerea osmolarităţii se face brusc, există riscul unei hiperhidratări a celulelor cerebrale. Acest fenomen s-ar explica prin aceia că în timpul hipertoniei osmotice prelungite a lichidului extracelular, celulele sistemului nervos central şi-au crescut osmolaritatea atât prin ieşirea apei din celule cât şi prin acumularea în celule a unor micromolecule organice produse de metabolismul celular (osmoli idiogenici). Refacerea bruscă a osmolarităţii lichidului extracelular va atrage apa din acest sector spre celulele creierului cu osmolaritate crescută, ceea ce implică riscul edemului cerebral manifestat prin convulsii şi comă.

De notat că hipersodemiile sugarilor, survenite de regulă în cadrul deshidratării, sunt mai severe decât în cazul adulţilor. Se recomandă ca refacerea hiperosmolarităţii unui sugar cu ajutorul unei soluţii hipotone, să decurgă cu o viteză de scădere a osmolarităţii de doar 1-2 mosmoli/l plasmă/oră, o astfel de terapie putând reduce o sodemie de la valoarea de 165 mEq/l la valoarea normală de 140 mEq/l în decurs de 24 ore (17).

9.6.5. RETENŢIA DE APĂ ŞI SODIU (EDEMELE)

Retenţia combinată de apă şi sodiu, survine destul de frecvent în patologia clinică, iar atunci când volumul lichidului interstiţial creşte cu cel puţin 10% se instalează edemele. Acestea apar ori de câte ori ieşirea fluidului din capilare, depăşeşte capacitatea de reîntoarcere sau de drenare pe cale limfatică. Edemele se dezvoltă mai ales în ţesutul conjunctiv subcutanat, care, fiind lax, poate fi destins cu uşurinţă de lichidele care se acumulează. Astfel de acumulări se întâlnesc în diferitele stări patologice ca de exemplu în boli renale, ciroză hepatică, caşexie, insuficienţă cardiacă. Alături de obstrucţia căilor limfatice care intervine mai ales în patogeneza edemului inflamator sau ca urmare a infiltrării tumorale, factorii care contribuie la dezvoltarea edemelor sunt creşterea permeabilităţii capilarelor, scăderea presiunii coloidosmotice şi creşterea presiunii hidrostatice în capilare. Există dovezi că o hipersecreţie de aldosteron, aşa zisul hiperaldosteronism secundar joacă un rol important în majoritatea stărilor patologice evoluând cu formarea de edeme, alcătuind o verigă patogenică comună. Principalele mecanisme care contribuie la formarea edemelor sunt prezentate mai jos:

a. Scăderea presiunii coloidosmotică a plasmei, în caz de hipoalbuminemie (sindrom nefrotic, ciroză hepatică, caşexie, enteropatie cu pierdere de proteine) are drept efect o redistribuire a lichidului extracelular, care scade în sectorul vascular şi creşte în interstiţiu. Acest mecanism este însă insuficient pentru a produce o acumulare netă de apă şi sodiu în organism. Scăderea volumului plasmatic determină însă o secreţie de aldosteron şi de hormon antidiuretic (vezi fig.9.4) şi duce implicit la o retenţie de sodiu şi de apă. Întrucât lichidul continuă

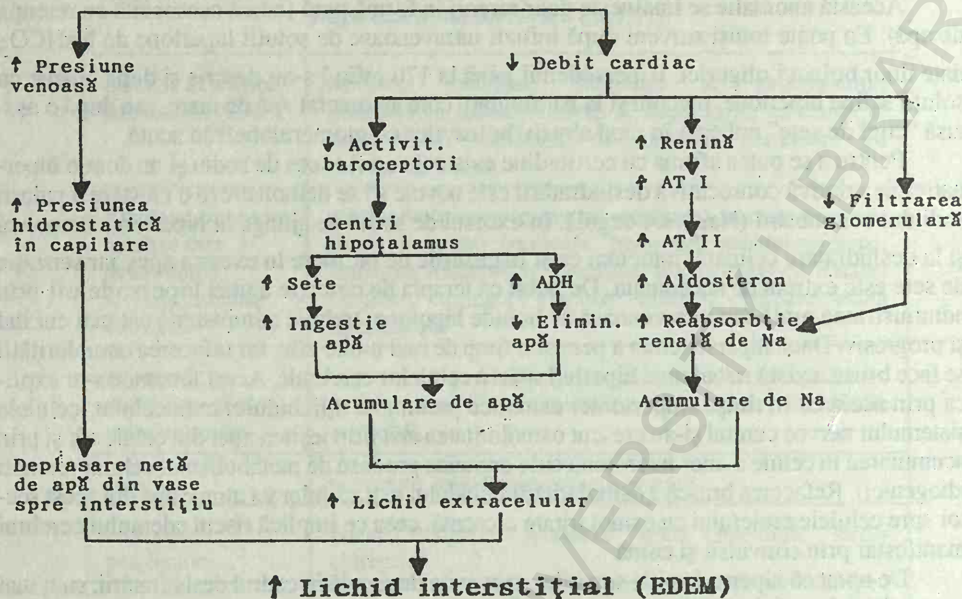


Fig.9.5. Mecanisme implicate în patogeneza insuficienţei cardiace congestive (explicaţii în text). După Kleinman şi Lorenz (11) modificată.

să difuzeze în interstiţiu, se împiedică restabilirea volumului plasmatic, astfel încât secreţia de aldosteron şi de ADH nu sunt inhibate printr-un mecanism adecvat de feed-back negativ. Din aceste motive echilibrul homeostatic nu se restabileşte, ajungându-se la importante acumulări de apă şi de sodiu.

b. În nefritele acute mecanismele implicate în producerea edemelor sunt reprezentate în primul rând de scăderea marcată a fitrării glomerulare, de modificări generalizate ale permeabilităţii capilarelor şi mai ales de perturbarea circulaţiei intrarenale care pune în joc mecanismul renină-angiotensină-aldosteron.

c. Insuficienţa cardiacă congestivă se asociază cu edeme, datorită creşterii presiunii hidrostatice din capilare, ca urmare a stazei venoase, precum şi datorită scăderii debitului cardiac, cu repercusiuni asupra presiunii de perfuzie la nivelul rinichiului, ceea ce duce la scăderea filtrării glomerulare şi la punerea în joc a mecanismului renină-angiotensină-aldosteron precum şi la sporirea secreţiei de ADH.

Creşterea volumului sanguin şi a presiunii din atrii ar trebui să reducă stimulii care determină secreţia de aldosteron şi să amplifice secreţia de hormon natriuretic atrial, dar stimulii acţionând asupra aparatului juxtaglomerular menţin activarea continuă a secreţiei de aldosteron şi de ADH. O reprezentare schematică a mecanismelor implicate în patogeneza edemelor din insuficienţa cardiacă este redată în fig.9.5.

Deşi rolul jucat de aldosteron în patogeneza retenţiei de sodiu şi în formarea edemelor este deosebit de important, el nu trebuie absolutizat şi va fi interpretat doar în contextul şi în asociere cu celelalte mecanisme patogenice. De fapt, singura administrare de aldosteron nu poate duce la o retenţie continuă de sodiu, iar după acumularea unei cantităţi de aproximativ 300-500 mEq de Na, se ajunge la

fenomenul de "scăpare" (escape) când organul efector (adică rinichiul) nu mai răspunde la aldosteron, iar sodiul începe să se elimine prin urină. De asemenea, reducerea fluxului sanguin printr-un rinichi în caz de stenoză a unei artere renale se însoţeşte de eliberarea de renină şi de o stimulare a secreţiei de aldosteron, dar nu evoluează cu edeme. Chiar şi în hiperaldosteronismul primar, în care secreţia de aldosteron este mult crescută, formarea edemelor este limitată. Se consideră că hipertensiunea arterială care însoţeşte atât stenoza arterei renale cât şi hiperaldosteronismul primar, duce la creşterea filtrării glomerulare, ceea ce limitează acumularea de apă şi de sodiu.

Spre deosebire de cele două anomalii arătate mai sus, în insuficienţa cardiacă congestivă, în ciroza hepatică şi în majoritatea cazurilor de sindrom nefrotic, tensiunea arterială nu este crescută, iar filtrarea glomerulară este diminuată.

9.6.6. HIPERALDOSTERONISMUL PRIMAR (SINDROMUL CONN)

Hiperaldosteronismul primar reprezintă o cauză rară de hipertensiune arterială. Este cauzat în 70-80% a cazurilor de un adenom al unei singure suprarenale, iar atunci când este recunoscut din timp, poate fi curabil prin îndepărtarea pe cale chirugicală a adenomului. Dacă nu este îndepărtat, adenomul va secreta aldosteron în mod autonom, sau, cu alte cuvinte, secreţia decurge independent de mecanismele de reglare şi nu răspunde la impulsurile de feed-back negativ.

Pe lângă hipertensiunea arterială, hiperaldosteronismul primar se caracterizează prin poliurie, la care se adaugă simptome mai nespecifice cum ar fi fatigabilitate, parestezii şi tendinţa la tetanie.

Laboratorul evidenţiază o scădere a potasiului seric, o creştere moderată a sodemiei precum şi o alcaloză metabolică, iar în urină se constată o creştere a eliminărilor de potasiu.

Diagnosticul se confirmă prin detectarea unei creşteri importante a concentraţiei de aldosteron în plasmă şi printr-o eliminare masivă de aldosteron în urină. Caracteristică este supresia până la valori nule a reninei plasmatice, fapt care contrastează cu valorile crescute ale reninei plasmatice în cazurile de hiperaldesteronism secundar (insuficienţă cardiacă, stenoza arterei renale) (vezi tabel 9.6). O probă relativ simplă (testul George) constă în administrarea consecutivă pe timp de 4 zile a 11-12 g NaCl/zi; la bolnavii cu hiperaldosteronism

Tabel 9.6.

Comportarea nivelelor plasmatice de renină şi de aldosteron în diferite stări patologice

Activitatea reninei	Scăzută (chiar nulă)	Crescută	Crescută	Scăzută
Secreţia de aldosteron	mult crescută	crescută	scăzută	scăzută
	Hiperaldosteronism primar (sindrom Conn)	Hiperaldosteronism secundar (ciroză, nefroză, insuf.cardiacă, hipertensiune renovasculară) graviditate	Insuficienţă suprarenală (Diverse deficite în secreţia de aldosteron)	Încărcări exogene cu sare. Administrarea de substanţe care cresc volumul lichidului extracelular

primar, acest regim va duce la o scădere şi mai marcată a potasiului seric care ajunge la valori sub 3,5 mEq/l.

Fiziopatologia hiperaldosteronismului primar ridică o serie de probleme interesante. Astfel ca urmare a creşterii reabsorbţiei tubulare a sodiului, se accentuează eliminările urinare de potasiu, iar depleţia de potasiu duce la alcaloză metabolică, acidoză tisulară şi acidurie paradoxală (vezi capitolul 8).

Aşa cum s-a arătat mai sus, hiperaldosteronismul primar nu evoluează cu edeme, deoarece hipertensiunea arterială duce la creşterea filtrării glomerulare şi la poliurie, astfel încât retenţia de sodiu este limitată. De altfel depleţia de potasiu se repercută defavorabil asupra tubilor renali care ajung să nu mai răspundă la aldosteron.

În cazuri mai rare hiperaldosteronismul primar este dat de o hiperplazie a ambelor suprarenale (hiperplazie adrenală idiopatică). Recunoaşterea diferitelor forme de hiperaldosteranism primar este importantă pentru conducerea terapiei (chirurgical în caz de adenom pe o singură suprarenală sau spironolactonă în caz de hiperplazie bilaterală a suprarenalelor). Pentru diferenţierea acestor forme se recurge la metode imagistice ca tomografia computerizată sau scintigrafia suprarenală, utilizându-se, în acest ultim procedeu, colesterol marcat cu isotopi, care se fixează relativ rapid în suprarenale. De reamintit că sinteza de aldosteron porneşte de la colesterol. Atunci când există condiţii adecvate se recomandă cateterizarea venelor ambelor suprarenale, urmată de dozări ale raportului aldosteron/cortizol în efluentul din fiecare venă.

9.6.7. ANOMALII ÎN ECONOMIA POTASIULUI

Aşa cum s-a arătat în tabelul 9.2 potasiul este localizat cu predominenţă intracelular, iar variaţiile concentraţiilor sale în plasmă dau doar indicaţii aproximative asupra conţinutului de potasiu al organismului. De fapt, cercetări efectuate cu izotopi radioactivi (^{42}K sau ^{43}K) au demonstrat că din cele aproximativ 3000-5000 mEq de potasiu din organism, doar 50-80 mEq se găsesc în lichidul extracelular. Ca urmare, deplasări relativ minore de K spre sau în afara celulelor, se vor solda cu modificări destul de importante ale potasemiei. Potasiul iese din celule în caz de degradare accelerată a proteinelor tisulare precum şi în cursul acidozelor, pe când alcalozele şi terapia cu insulină determină o deplasare a ionilor K^+ spre celule.

În condiţii normale, concentraţia potasiului plasmatic este menţinută între limite destul de stricte (3,8 - 5 mEq/l) în ciuda conţinutului extrem de variat în potasiu al alimentelor ingerate (în medie 100 mEq/zi cu oscilaţii între 40-200 mEq/zi). Principalul mecanism de menţinere a potasemiei este reprezentat de reglarea eliminărilor urinare de K, care la rândul lor se află sub controlul secreţiei de aldosteron. De notat că o creştere a nivelului potasiului plasmatic stimulează secreţia de aldosteron (vezi fig.9.6). Se ştie că potasiul plasmatic se filtrează la nivelul glomerulilor, fiind însă neabsorbit aproape în totalitate la nivelul tubilor contorţi proximali şi în ramura ascendentă a ansei lui Henle, astfel încât abia 10% din potasiul filtrat ajunge în tubul contort distal. Aici însă, potasiul din plasmă este secretat în fluidul tubular, procesul decurgând la schimb cu ionii de Na reabsorbiţi din fluidul tubular şi în competiţie cu eliminările de H^+ care se elimină prin acelaşi canal ca şi ionii de K^+.

Pe lângă rolul major jucat de aldosteron, eliminările de potasiu la nivelul tubului contort distal sunt amplificate de o dietă bogată în potasiu, precum şi de creşterea cantităţilor de sodiu şi de apă ajunse în tubii contorţi distali. Aşa cum s-a mai arătat, alcaloza accentuează mult eliminările urinare de potasiu (vezi capitolul 8).

Aşa cum s-a arătat în tabelul 9.3, sucurile digestive sunt relativ bogate în potasiu, dar ajuns în lumenul intestinal acest cation este în mare măsură reabsorbit, ca şi potasiul din ali-

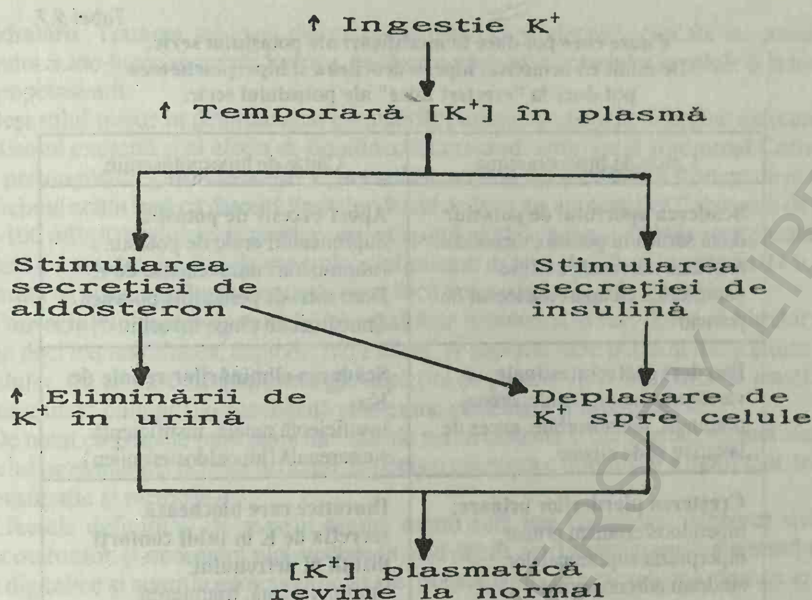


Fig.9.6. Reglarea concentraţiei plasmatice de potasiu.

mente, astfel încât în materiile fecale se elimină zilnic doar 8-10 mEq (o cantitate redusă comparativ cu eliminările urinare care sunt în medie de 75 mEq/24 ore, cu variaţii în funcţie de dietă). Aşa cum este de aşteptat, vărsăturile şi diareile, alături de exagerarea pierderilor urinare, pot duce la o importantă depleţie de potasiu.

Deşi modificările "capitalului potasic" nu se însoţesc întotdeauna de modificări în acelaşi sens ale potasemiei, acestea din urmă sunt mai uşor accesibile laboratorului clinic. Din acest motiv, anomaliile suferite în economia potasiului sunt abordate, de regulă, în funcţie de modificările potasemiei, clasificându-se în hipo- şi hiperpotasemiei şi precizându-se, pe cât posibil, situaţiile în care există şi o modificare exprimată a capitalului potasic.

Cauzele care pot duce la scăderi sau creşteri patologice ale potasemiei sunt trecute în tabelul 9.7.

9.6.7.1. HIPOPOTASEMIILE

Este important de precizat că mecanismele care pot duce la hipopotasemie se pot intrica. Un exemplu tipic în acest sens este dat de stenoza pilorică. Pierderile de K^+ şi de HCl prin vărsături, duc atât la o scădere a potasemiei cât şi la o alcaloză metabolică, care, la rândul ei, determină o eliminare crescută de potasiu în urină. Hipopotasemia accentuează alcaloza, iar scăderea volumului plasmatic şi a presiunii pulsului în arteriolele renale determină creşterea secreţiei de aldosteron, prin mecanismele descrise anterior, ceea ce agravează atât pierderile de potasiu cât şi alcaloza.

De notat că în cadrul unei aceleiaşi stări patologice, şi la un acelaşi bolnav, hiperpotasemia şi hipopotasemia pot alterna în funcţie de evoluţia bolii şi de terapie.

Tabel 9.7.

Cauze care pot duce la modificări ale potasiului seric. De notat că hemoliza, hiperleucocitoza şi hiperplachetoza pot duce la "creşteri false" ale potasiului seric.

Cauze de hipopotasemie	Cauze de hiperpotasemie
Scăderea aportului de potasiu: dietă săracă în potasiu, alcoolism, anorexie nervoasă, nutriţie parenterală cu aport inadecvat de potasiu	**Aport excesiv de potasiu:** Suplimentări orale de potasiu. Administrări intravenoase de K. Doze mari de penicilină potasică. Transfuzii de sânge învechit.
Pierderi gastrointestinale: vărsături, diarei, fistule, drenaj prelungit, malabsorbţie, exces de laxative şi de clisme	**Scăderea eliminărilor renale de K:** Insuficienţă renală, insuficienţă suprarenală (hipoaldosteronism)
Creşterea pierderilor urinare: hiperaldosteronism primar, hiperplazia suprarenalelor, sindrom adrenogenital.	**Diuretice care blochează secreţia de K în tubii contorţi distali ai nefronului:** Spironolactonă, triamteren, amilorid
Boli renale: acidoză tubulară renală, sindrom Fanconi	**Deplasarea potasiului din celule spre lichidul extracelular:** Sindrom de strivire*** Hipoxie tisulară*** Deficit de insulină*** supradoză de digitală*** acidoză***, +
Diuretice: tiazide, furosemid, acetazolamidă	
Deplasarea potasiului extracelular spre celule: hiperinsulinism*, alcaloză**	

* - se poate asocia cu o creştere a potasiului total din organism

** - duce şi la creşterea eliminărilor urinare de potasiu

*** - se asociază cu depleţie a potasiului din organism; + duce şi la o scădere a eliminărilor urinare de K.

Aşa de exemplu, în insuficienţa renală acută, oliguria şi implicit scăderea eliminărilor urinare de potasiu vor duce la creşterea potasemiei, dar în perioada de revenire a diurezei, evoluând cu poliurie exprimată, se ajunge la pierderi excesive de potasiu în urină şi la hipopotasemie. Tot aşa în cursul unei acidoze diabetice, potasiul seric poate fi crescut atât ca urmare a ieşirii sale din celule cât şi datorită competiţiei între eliminările renale de K^+ şi H^+. Pe de altă parte, poliuria cauzată de diureza osmotică asociată glicozuriei duce la diminuarea capitalului potasic al celulelor, care nu îşi găseşte însă un corespondent în nivelul plasmatic de potasiu, care rămâne crescut datorită mecanismelor descrise mai sus, precum şi ca urmare

a deshidratării. Tratarea acidozei diabetice cu insulină şi glucoză, cuplată cu corectarea echilibrului acido-bazic şi cu rehidratarea, produce o reintrare a potasiului în celule şi la apariţia unei hipopotasemii.

Deşi rolul major în determinarea eliminărilor urinare de potasiu îi revine aldosteronului, cortisolul exercită şi el efecte de tip mineralocorticoid, astfel încât sindromul Cushing şi terapia prelungită cu glucocorticoizi se pot solda cu creşterea pierderilor urinare de potasiu.

Trebuie arătat însă că datorită limitelor destul de largi ale eliminărilor fiziologice de potasiu (20-100 mEq/l) noţiunea de pierdere urinară patologică de potasiu, trebuie interpretată doar în context cu potasemia. Aşa de exemplu, o eliminare urinară de 25 mEq potasiu/24 h, va fi considerată ca fiind patologic crescută, doar dacă potasemia este sub 3,5 mEq/l.

Consecinţele hipopotasemiei. Potenţialul de membrană al nervilor şi al fibrelor musculare şi deci excitabilitatea, depinde, între altele, de raportul între potasiul intracelular şi cel extracelular. Ca urmare simptomatologia depleţiei de potasiu va fi dominată de manifestări neuromusculare cum ar fi o accentuată slăbiciune musculară şi hiporeflexie.

De notat că grupele musculare inervate de nervii cranieni şi diafragmul nu sunt afectate. La nivelul musculaturii netede, deficitul de potasiu cauzează o diminuare a motilităţii, tradusă prin constipaţie şi meteorism.

Efectele deficitului de potasiu asupra inimii sunt mai complexe, deoarece sistemul excitoconductor şi miocardul sunt afectate în mod diferit. Se constată o creştere a sensibilităţii faţă de digitalice şi apariţia unor modificări electrocadiografice caracteristice, care nu se corelează însă strâns cu concentraţia potasemiei.

Depleţia cronică de potasiu duce la o scădere a capacităţii rinichilor de a concentra urina şi la o lipsă de răspuns a tubilor renali la stimulii reprezentaţi de aldosteron şi de ADH. Această "nefropatie kaliopenică", poate complica aspectul bolii, ducând la o poliurie care poate ajunge până la 4 l/zi şi la o accentuată senzaţie de sete, iar de multe ori pe acest fond se grefează o infecţie dezvoltându-se o pielonefrită.

9.6.7.2. HIPERPOTASEMIILE

În timp ce majoritatea cazurilor de hipopotasemie, survin pe fondul unei depleţii de potasiu a organismului, creşterile potasemiei nu se asociază cu o sporire a potasiului din celule. Dimpotrivă, în multe cazuri de hiperpotasemie se poate decela o depleţie de potasiu. De fapt, hiperpotasemiile (nivele peste 5,5 mEq/l) se dezvoltă ori de câte ori viteza de ieşire a potasiului din celule depăşeşte posibilităţile de excreţie. Astfel de situaţii sunt menţionate în tabelul 9-7. De multe ori creşterea ieşirii din celule a potasiului se asociază cu scăderea procesului de eliminare a acestui cation prin urină. De exemplu în sindromul de strivire sau în şoc toxico-septic, degradarea proteinelor tisulare, duce la o eliberare de potasiu din celule (pentru fiecare 6,25g proteine tisulare degradate se eliberează 2,7 mEq potasiu), iar insuficienţa renală oligurică, care complică astfel de stări, perturbă eliminările urinare de potasiu. Ca urmare, în astfel de stări patologice valoarea potasemiei poate ajunge la 7 mEq/l şi chiar la 10 mEq/l.

O menţiune specială se cuvine acordată hiperpotasemiilor din insuficienţa suprarenală (boala Addison), din diferite deficienţe ale secreţiei de aldosteron, precum şi în cazul lipsei de răspuns a tubilor renali la stimularea produsă de aldosteron.

Consecinţele hiperpotasemiei. Manifestările neuromusculare date de hiperpotasemie apar relativ tardiv şi se caracterizează prin parestezii, cu furnicături şi fibrilaţii musculare, apărute mai ales la musculatura feţei. Deficitul motor variază de la o stare de slăbiciune musculară şi până la fenomene de paralizie flască cu progresie ascendentă. Se produc modificări progresive ale ECG, începând cu aspecte de undă T în pisc (la valori de aproximativ 7 mEq/l ale

potasemiei) şi culminând cu fibrilaţie ventriculară sau asistolie (la valori ale potasiului seric peste 11 mEq/l).

9.6.7.3. DEPLASĂRI BRUŞTE ALE POTASIULUI ÎNTRE CELULE ŞI PLASMĂ

Deplasări bruşte ale potasiului din sectorul celular spre cel extracelular şi invers, se însoţesc de hiper- şi respectiv hipopotasemii, chiar şi atunci când funcţia renală nu este afectată. Transferuri deosebit de rapide ale potasiului între cele două sectoare menţionate joacă un rol important în patogeneza **paraliziilor perioadice familiale**. În forma hipokalemică crizele paralitice survin în cursul repaosului luat după un efort muscular intens, după consumul unei diete bogată în hidraţi de carbon (mai ales după zahăr) sau după expunere la frig. Fenomenele pot fi de altfel reproduse cu regularitate după injectarea de glucoză şi insulină. În cursul crizei se constată o scădere extrem de accentuată a potasiului seric cauzată de pătrunderea cationului în celule, în timp ce în perioada de remisie şi între crize valorile potasemiei sunt normale.

În forma hiperkalemică fenomenele clinice sunt similare, dar nivelul potasiului seric poate creşte până la valori de 8 mEq/l, în timp ce potasiul muscular scade. Crizele paralitice pot fi reproduse prin administrarea de potasiu.

Se consideră că fenomenele musculare consecutive acestor deplasări bruşte de K, s-ar datora unor depolarizări a membranelor celulare care pot dura până la 24 de ore (8,9,11,17).

9.6.8. ANOMALII ÎN BALANŢA CLORULUI

Clorul este principalul anion din spaţiul extracelular. Cantitatea totală de clor din organism este de 30 mEq/kg (adică 2100 mEq pentru un subiect de 70 kg). Aproximativ 88% din clor se află în lichidul extracelular şi abia 12% în celule. Aşa cum se vede din tabelul 9.2, concentraţia ionilor de clor este cu ceva mai mare în lichidul interstiţial decât în plasmă, datorită conţinutului mai redus în proteine al interstiţiului

Ingestia de clor este paralelă cu cea de sodiu (sub formă de NaCl) şi oscilează între 20 şi 200 mEq clor/zi, iar calea majoră de eliminare este cea renală, eliminările prin sudoare şi prin fecale fiind neînsemnate în condiţii fiziologice.

Excesul de clor survine atunci când ingestia de cloruri depăşeşte eliminările, iar astfel de situaţii coincid de regulă cu retenţia de sodiu. Excepţie face acidoza metabolică, în care creşterea clorului extracelular nu se asociază cu o creştere a sodiului. Într-o astfel de situaţie, scăderea bicarbonaţilor face ca neutralitatea electrică a fluidului să fie asigurată, în parte, de o creştere a clorului, iar acest proces se realizează printr-o mai mare proporţie a reabsorbţiei tubulare a sodiului sub formă de NaCl decât sub forma de $NaHCO_3$.

Deficitul de clor se produce atunci când eliminările depăşesc aportul. Şi în astfel de cazuri modificările clorului seric sunt de regulă paralele cu cele suferite de sodiu. Excepţie face alcaloza metabolică când deficitul de clor nu se însoţeşte de o scădere a sodiului. În această situaţie excesul de bicarbonaţi face ca, în prezenţa unui conţinut normal de sodiu, să fie necesară o eliminare sporită de clor în urină pentru ca neutralitatea electrică a plasmei să fie menţinută (clorul eliminat în urină se echilibrează cu potasiul).

Concentraţia plasmatică de clor, ca şi cea de sodiu, nu urmează întotdeauna modificările conţinutului total în aceşti electroliţi a organismului. De fapt, concentraţiile plasmatice de Cl şi de Na depind foarte mult de modificările suferite de volumul apei extracelulare (11) şi implicit de gradul de diluţie a electroliţilor.

9.7. CONSIDERAȚII CRITICE PRIVIND DIAGNOSTICUL ȘI TERAPIA PERTURBĂRILOR ECHILIBRULUI HIDROELECTROLITIC

Deşi în paginile precedente, anomaliile afectând apa, sodiul, potasiul şi clorul, au fost tratate separat, trebuie subliniat că, în practică, anomaliile echilibrului hidroelectrolitic se prezintă sub aspecte deosebit de complexe şi sunt de multe ori asociate cu anomalii ale echilibrului acidobazic. Succesul terapiei de corecţie va depinde de măsura în care medicul este capabil să depisteze şi să descifreze aceste anomalii.

În **diagnosticul perturbărilor hidroelectrolitice** se va ţine cont de:

a. condiţii de apariţie a acestor perturbări (diarei, vărsături, transpiraţii, poliurie, diabet zaharat, şoc toxicoseptic etc.);

b. manifestările clinice: setea, uscăciunea mucoaselor şi tegumentelor, hipotonia globilor oculari denotând deshidratarea celulară, iar cefaleea, obnubilaţia, greaţa sugerând mai degrabă o hiperhidratare celulară;

c. cântărirea bolnavului orientează asupra pierderilor sau retenţiilor de lichide, iar urmărirea volumului şi densităţii urinei reprezintă un mijloc simplu de evaluare a mecanismelor homeostatice de la nivelul rinichilor;

d. probele de laborator au o importanţă deosebită, dar ele vor fi interpretate în lumina datelor clinice şi ţinându-se cont de limitările arătate anterior, iar electrocardiograma este de o reală utilitate pentru depistarea eventualelor consecinţe ale anomaliilor potasemiei asupra miocardului.

Terapia de corecţie se va aplica cât mai precoce, dar, de preferinţă, după o evaluare corectă a osmolarităţii şi a concentraţiei diverşilor cationi. Este de asemenea necesar ca, înainte de aplicarea terapiei, medicul să se intereseze de starea diurezei, iar controlul de laborator se va efectua de repetate ori în cursul terapiei de corecţie spre a se evita greşelile. Un tratament stereotip condus (de exemplu administrând unui bolnav oliguric o cantitate mare de soluţii glucozate lipsite de sodiu), poate duce la hiperhidratare celulară cu consecinţe extrem de severe. De fapt, în terapia bolnavilor anurici, volumul total de lichide administrate nu trebuie să depăşescă suma pierderilor prin scaun, sudoare şi perspiraţie insensibilă. Întrucât bolnavul produce şi un anumit volum de apă de oxidaţie, în perioada anurică se vor administrarea doar 600-800 ml de lichide, iar în perioada poliurică de revenire a diurezei, terapia de corecţie va aduce un plus de lichide corespunzător cantitativ şi calitativ cu eliminările urinare. În această perioadă poliurică ca şi în cursul terapiei cu insulină şi glucoză a unei come diabetice trebuie să se prevadă posibilitatea instalării unei hipopotasemii şi să se aplice măsuri adecvate încă înainte de apariţia manifestărilor clinice. De regulă administrarea orală a unei doze de 3 g KCl (1g KCl = 13 mEq K) de două ori pe zi previne o depleţie de potasiu. În cazurile în care pierderile de potasiu sunt mai importante şi atunci când se bănuieşte instalarea unei depleţii de potasiu, administrările acestui cation vor fi cu cel puţin 100 mEq/zi mai mult decât pierderile zilnice (calculate în funcţie de conţinutul în potasiu al lichidelor pierdute). Administrările în perfuzie se vor aplica doar atunci când calea orală nu este posibilă (vărsături, diarei) iar în astfel de situaţii concentraţia în potasiu a lichidelor infuzate nu trebuie să depăşească 50 mEq/l. Cantitatea administrată depinde de gravitatea hipopotasemiei, monitorizându-se de repetate ori potasemia şi electrocardiograma.

Corecţia unei hiperpotasemii se realizează prin injecţi intravenoase de glucoză (25 g glucoză într-o soluţie 50%) şi de insulină (20 unităţi), având-se grijă să se corecteze şi o eventuală hiponatremie sau acidoză.

În cazurile unei hiperpotasemii exprimate la un bolnav cu insuficienţă renală acută se indică hemodializa de urgenţă.

O atenţie deosebită trebuie acordată perturbărilor hidroelectrolitice apărute la sugari. De notat că pierderile de apă prin perpiraţie insensibilă, calculate pe kg corp/oră sunt de trei ori mai mari la sugar, iar nevoile de lichide ale sugarilor sunt de 150 ml/kg/zi faţă de 30-40 ml/kg/zi la adulţi. Pentru a se combate o deshidratare severă, este de multe ori nevoie de canularea unei vene şi de administrarea a 175-225 ml/kg, ajustându-se conţinutul în sodiu al lichidului de perfuzie în funcţie de sodemie, iar potasiul se va administra doar după 12-24 de ore, atunci când debitul urinar s-a restabilit la valori adecvate.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1.Beland B., Tuchelt H., Bahr V., Oelkers W. The role of atrial natriuretic factor [alpha-human ANF) (99-126)] in the hormonal and renal adaptation to sodium deficiency. J.Clin. Endocrinol. and Metabol.1994, 79: 183-188.

2.Cucuianu M. Biochimie clinică vol.I, Ed.Dacia Cluj-Napoca, 1977.

3.Cuparencu B., Pleşca L. Actualităţi în farmacologie şi Fiziopatologie, Editura Dacia Cluj-Napoca, 1995, pp.161-170.

4.De Bold A.J., Borenstein H.B., Veress A.T., Sonnenberg H. A rapid and patent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extracts in rats. Life Sci. 1981, 28: 89-94.

5.Donaldson D. Polyuria and polydipsia in Williams and Marks (Editors) Biochemistry in clinical practice William Heinemann Medical Books London 1983, pp. 43-65.

6.First R.M. Renal function in Kaplan and Pesce (Editors) Clinical Chemistry C.V.Mosby Company, St.Louis Toronto, Princenton 1984, pp.403-419.

7.Ganguly A. Atrial natriuretic peptide-induced inhibition of aldosterone secretion: a quest for mediators (editorial) Amer.J.Physiol. 1992, 263: E181-194.

8.Ganong W.F. Review of Medical Physiology. Lange Medical Publications Los Altos, California, 1971.

9.Harper H.A. Review of Physiological Chemistry. Lange Medical Publications Los Altos, California, 1971.

10.Kangawa K., Matsuo H. Purification and complete amino acid sequence of alpha-human atrial natriuretic polypeptide (-hANP). Biochem.Biophys.Res.Commun. 1984, 118: 131-139.

11.Kleinman L.I., Lorenz J.M. physiology and pathophysiology of body water and electrolytes in Kaplan and Pesce (Editors) Clinical Chemistry, C.V.Mosby Company, St.Louis, Thoronto, Princenton 1984, pp. 363-386.

12. Kramer H.J., Kruck E. Natriuretic hormone. Springer Verlag New York 1978.

13.LeeM.E., Miller W.L., Edwards B.S., Burnett J.C. Role of endogenous atrial natriuretic factor in acute congestive heart failure. J.Clin.Invest. 1986, 84: 1962-1966.

14.Lang G., Dyball R.E., Luckman S.M. Mechanism of vasopressin secretion. Hormone Research, 1992, 37: 33-38.

15.Licata G., Volpe M., Scaglione R., Rubatu S. Salt regulating hormones in young normotensive obese subjects. Effects of saline load. Hypertension 1994, 23 (suppl.1) 120-124.

16.Stevens T.L., Wei C.M., Aarhus L.L., Heublein D.M., Kinoshita M., Matsuda Y., Burnett J.C. Modulation of exogenous and endogenous atrial natriuretic peptide by a receptor inhibitor. Hypertension, 1994, 23: 213-618.

17.Walters G. Disorders of fluid and electrolyte balance in Williams and Marks (Editors). Biochemistry in Clinical practice William Heinemann Medical Books London 1983, pp. 1-23.

ÎNTREBĂRI DE CONTROL

1. Secreţia de hormon antidiuretic (vasopresină, ADH) este stimulată de:
A. Scăderea volumului lichidului extracelular,
B. Creşterea osmolarităţii
C. Angiotensina II
D. Toţi aceşti stimuli.

2. În hiperaldosteronismul primar (sindrom Conn) se constată:
A. Creşterea nivelului de aldosteron
B. Creşterea reninei plasmatice
C. Ambele modificări
D. Nici una.

3. Creşterea presiunii intraatriale determină:
A. O secreţie de aldosteron
B. O eliberare de hormon natriuretic
C. O secreţie de hormon antidiuretic
D. Toate aceste procese.

4. În care din stările patologice de mai jos se poate întâlni o hiperpotasemie ?
A. Hiperaldosteronism primar
B. Stenoză pilorică şi vărsături incoercibile
C. Perioada anurică a unei insuficienţe renale acute
D. Tratament cu acetazolamidă.

5. În sindromul de strivire se poate constata:
A. O creştere a potasemiei
B. O creştere a capitalului potasic al organismului
C. Ambele fenomene
D. Nici unul.

6. Stabiliţi corespondenţa între comportarea secreţiei de aldosteron şi de renină şi stările patologice cu care corespund:

A. Renină crescută, aldosteron crescut
B. Renină foarte scăzută, aldosteron mult crescut
C. Renină crescută, aldosteron scăzut
D. Renină scăzută, aldosteron scăzut

I. Administrarea de substanţe care cresc volumul plasmatic
II. Hiperaldosteronism primar
III. Hiperaldosteronism secundar
IV. Insuficienţă suprarenală

7. Care din diureticele de mai jos nu produce deperdiţia de potasiu?
A. Tiazida
B. Furosemid
C. Acetozolamida
D. Spironolactona

8. Hipovolemia, asociată cu scăderea concentrației sodiului plasmatic, şi hiperpotasemia se pot întâlni în:

A. Hiperaldosteronismul primar (sindrom Conn)
B. Hiperaldosteronism secundar
C. Secreția autonomă de hormon antidiuretic
D. Stadiile avansate ale bolii Addison.

9. Scăderea potasiului seric poate surveni după:
A. Injectarea de glucoză şi insulină unui bolnav cu acidoză diabetică
B. Stenoză pilorică şi vărsături repetate
C. Hiperaldosteronism primar
D. În toate aceste situații
E. În nici una.

10. Edemele masive constituie o manifestare frecventă şi caracteristică pentru:
A. Hiperaldosteronismul primar (sindrom Conn)
B. Boala Addison
C. Stenoza arterei renale (Hipertensiune renovasculară)
D. În toate aceste boli
E. În nici una.

11. În insuficiența cardiacă cronică congestivă survine o creştere a secreției de aldosteron **deoarece** scăderea debitului cardiac determină eliberarea de renină.

12. Injecțiile intravenoase de glucoză şi insulină produc o scădere a potasiului seric **deoarece** angiotensina II stimulează secreția de aldosteron.

13. Aldosteronismul produce o creştere a potasemiei **deoarece** hiposmolaritatea plasmei stimulează secreția de hormon antidiuretic.

14. În hiperaldosteronismul primar se constată o creştere marcată a reninei plasmatice **deoarece** angiotensina II stimulează eliberarea de hormon antidiuretic.

Cheia pentru întrebările 11,12,13,14:

A. Ambele afirmații sunt corecte şi legate cauzal
B. Ambele afirmații sunt corecte dar nu sunt legate cauzal
C. Prima afirmație corectă, a doua incorectă
D. Prima afirmație incorectă, a doua corectă
E. Ambele afirmații sunt incorecte.

10. ACIDUL URIC ŞI GUTA

Acidul uric este incriminat în patogeneza gutei, a litiazei renale şi a nefropatiei urice. Valorile normale ale uricemiei se se situează sub 7 mg/dl (420 μmoli/l) la bărbaţi şi sub 6 mg/dl (360 μmoli/l) la femei. De regulă, copiii de ambele sexe prezintă valori joase, fiind în medie de 3,7 mg/dl (220 μmoli/l).

Examinările de laborator, efectuate cu prilejul unor controale de rutină, decelează însă, relativ frecvent valori ale uricemiei de peste 7 mg/dl, fără ca aceşti subiecţi să prezinte manifestări clinice. S-ar părea deci că pentru dezvoltarea unor procese patologice este nevoie de intervenţia unor factori adjuvanţi (1,8,10).

Principalele probleme ridicate de rolul patogen al acidului uric ar putea fi deci astfel formulate:

a) care sunt mecanismele prin care se ajunge la creşterea concentraţiei de acid uric în umorile organismului;

b) care sunt mecanismele prin care acumulările de acid uric în organism, determină fenomene patologice.

10.1. SURSELE DE ACID URIC

Acidul uric reprezintă produsul final al metabolismului bazelor purinice (adenina şi guanina) în organismul uman. De notat că, spre deosebire de om şi maimuţele antropoide, majoritatea altor mamifere posedă mecanisme prin care acidul uric este degradat în continuare până la un compus mai solubil denumit alantoină. Pentru a înţelege modul în care se poate ajunge la o creştere a nivelului seric de acid uric este important să se precizeze sursele de purine din care va rezulta acid uric. În organismul uman purinele provin din alimente, din catabolismul nucleoproteinelor celulare proprii şi prin sinteză endogenă "de novo" (fig.10.1).

Sinteza endogenă reprezintă cea mai importantă sursă de purine din organism. De notat însă că o alimentaţie bogată în surse de proteine, conţinând multe celule şi implicit mulţi nuclei, poate duce la o creştere a uricemiei. Astfel de alimente sunt mai ales viscerele şi icrele de peşte, iar dintre vegetale spanacul şi sparanghelul (8). Exagerarea catabolismului nucleoproteinelor proprii survine în câteva boli proliferative incluzând leucemiile, limfoamele, policitemia vera, mielomatoza, unele hemoglobinopatii evoluând cu hemoliză precum şi în unele cazuri de psoriazis.

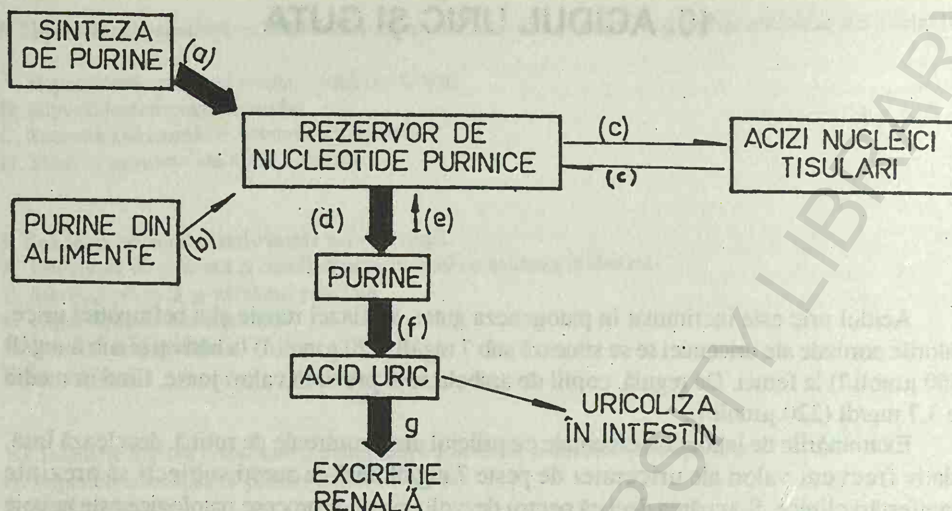


Fig.10.1. Originea și soarta purinelor din organism. Schema modificată după Zilva și Pannall (17).
Calea (a) crescută în cazurile de hiperuricemie primară (enzimopatice)
Calea (b) mult influențată de regimul dietetic
Calea (c) mult accelerată în hemopatii maligne, terapie citostatică, psoriazis
Calea (d) dependentă de mărimea și viteza de primenire (turnover) a rezervorului de nucleotide purinice
Calea (e) activă în țesuturile extrahepatice (mai ales măduvă osoasă) și ineficientă în deficitul de HGPRT
Calea (f) poate fi diminuată prin inhibitori ai xantinoxidazei
Calea (g) perturbată în insuficiența renală, acidoză sau prin anomalii genetice ale secreției tubulare de acid uric; crește după medicația uricozurică.

10.1.1. SINTEZA DE PURINE

Chiar și în condițiile unei alimentații complet lipsite de o sursă de purine, organismul uman își poate sintetiza nucleoproteine conținând baze purinice, din al căror catabolism rezultă acid uric care se elimină prin urină.Astfel de observații constituie o dovadă a importanței majore a sintezei endogene de purine, care pornește de la elemente constitutive relativ simple și anume ribozo-5-fosfatul, glutamina, glicocolul, acidul aspartic, bioxidul de carbon și formiat.

Calea de sinteză a purinelor este deosebit de complexă, dar anumite etape ale acestui proces prezintă o importanță deosebită pentru înțelegerea anomaliilor survenite în metabolismul lor (fig.10.2).

Într-o primă etapă (a), are loc condensarea a două molecule de fosfat din ATP cu ribozo-5-fosfatul formându-se fosforibozilpirofosfat (PRPP), în cadrul unui proces catalizat de **PRPP sintetază**.

Într-o etapă ulterioară (b) gruparea amino a glutaminei este incorporată în ribozofosfat, eliminându-se două molecule de fosfat și acid glutamic. Din această reacție catalizată de **PRPP amidotransferază** rezultă fosforibozilamina (PR amina). Trebuie subliniat că enzima mai sus menționată joacă un rol cheie (rate limiting) în sinteza purinelor, fiind supusă unui control, în sensul limitării activității sale, atunci când se acumulează nucleotide purinice (AMP și GMP).

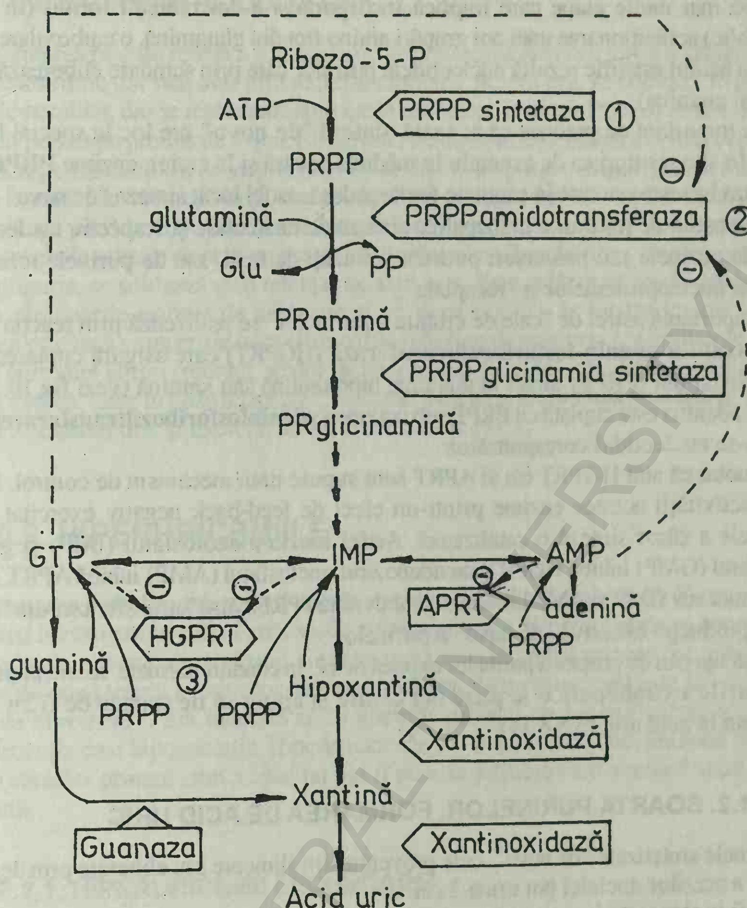


Fig.10.2. Reprezentare schematică a sintezei purinelor şi a formării de acid uric. Pentru simplificare sunt omise din schemă etapele intermediare între PR-glicinamidă şi IMP.
P - grupare fosfat; PP - pirofosfat; PR - fosforibozil; PRPP - fosforibozilpirofosfat; IMP - inozinmonofosfat; AMP- adenozinmonofosfat; GMP- guanozinmonofosfat; APRT - adenin-fosfdoriboziltransferaza.
1) iniţierea sintezei de purine prin PRPP sintetază
2) la nivelul enzimei cheie PRPP-amidotransferază se exercită principalul mecanism de control al sintezei de purine prin feed-back negativ exercitat de nucleotide (GMP şi AMP) şi reprezentat în schemă prin linia întreruptă asociată cu semnul "Θ".
3) mecanismul de cruţare al purinelor catalizat de HGPRT în ţesuturile extrahepatice.

Cu alte cuvinte produşii finali ai lanţului de reacţii enzimatice exercită o inhibiţie prin mecanism de feed-back negativ, prevenindu-se o producţie excesivă de purine.

Ulterior, în etapa (c) se adaugă o moleculă de glicocol la PR amină sub acţiunea **PR glicinamidsintetazei**, rezultând PR-glicinamidă. Utilizându-se glicocol marcat se poate urmări viteza de sinteză a purinelor şi implicit a producţiei de acid uric, având în structura lui glicocol marcat radioactiv.

După mai multe etape care implică încorporarea a doi radicali formil (în prezenţa acidului folic) achiziţionarea unei noi grupări amino (tot din glutamină, o carboxilare şi o condensare cu acidul aspartic rezultă nucleotidele purinice care prin scindare eliberează purinele (adenina şi guanina).

Este important de precizat că această sinteză "de novo" are loc în special la nivelul ficatului. În alte ţesuturi ca de exemplu în măduvă osoasă şi în creier, enzima **PRPP amidotransferază** lipseşte sau este în cantitate foarte redusă, astfel încât sinteza "de novo" este mult limitată. În astfel de ţesuturi extrahepatice sinteza de nucleotide şi respectiv nucleoproteine depinde de purinele sau precursori purinici furnizaţi de ficat, sau de purinele rezultate din degradarea nucleoproteinelor şi "recaptate".

O importantă astfel de "cale de cruţare a purinelor" se realizează prin reacţia catalizată de **hipoxantin-guanin-fosforiboziltransferază** (HGPRT) care asigură cuplarea fosforibozilpirofosfatului (PRPP) direct la guanină, hipoxantină sau xantină (vezi fig.10.2). Pe de altă parte, adenina este cuplată cu PRPP sub acţiunea **adeninfosforiboziltransferazei** (APRT) formându-se nucleotidul corespunzător.

De notat că atât HGPRT cât şi APRT sunt supuse unui mecanism de control, în sensul limitării activităţii acestor enzime printr-un efect de feed-back negativ exercitat de către nucleotidele a căror sinteză o catalizează. Astfel inozin-monofosfatul (IMP) şi guanozinmonofosfatul (GMP) inhibă HGPRT, iar adenozinmonofosfatul (AMP) inhibă APRT. Aşa cum s-a arătat mai sus GMP şi AMP limitează şi activitatea PRPP amidotransferazei din ficat, prevenind o producţie excesivă "de novo" a purinelor.

Existenţa căii de cruţare a purinelor explică de ce, în condiţii normale, foarte puţine purine din ţesuturile extrahepatice se pierd din celule şi ajung să fie captate de ficat spre a fi catabolizate în acid uric (3,5,8,14).

10.1.2. SOARTA PURINELOR, FORMAREA DE ACID URIC

Purinele sintetizate "de novo", cele provenite din alimente sau eliberate prin degradarea endogenă a acizilor nucleici pot urma 2 căi:
1. ele pot fi încorporate în noi acizi nucleici;
2. ele pot fi oxidate spre acid uric.

Degradarea bazelor purinice implică un proces de desaminare şi un proces de oxidare. Astfel din dezaminarea guaninei sub acţiunea **guanazei** rezultă xantina, în timp ce adenina cuplată cu riboza (sub formă de nucleozid) este dezaminată sub acţiunea **adenozindeaminazei** formându-se inozina (un nucleozid dezaminat) care prin scindare eliberează hipoxantina.

Hipoxantina se oxidează în ficat sub acţiunea **xantinoxidazei**, formând xantină; care, la rândul ei se oxidează la acid uric într-un proces catalizat de aceeaşi xantinoxidază (vezi fig.10.2).

Întrucât organismul uman nu este dotat cu mecanisme care să asigure degradarea în ţesuturi a acidului uric, îndepărtarea din organism a acestui produs de deşeu se face prin eliminare pe cale urinară şi într-o măsură mai redusă, prin mucoasa intestinală. De notat că în lumenul intestinal poate avea loc un proces de uricoliză exercitat de bacteriile florei intestinale. Rolul uricolizei intestinale este însă minor în comparaţie cu excreţia pe cale renală (8,14).

10.1.3. EXCREȚIA ACIDULUI URIC

Eliminarea pe cale renală a acidului uric se realizează prin mecanisme complexe de filtrare şi reabsorbţie dar mai ales prin secreţie tubulară. Acidul uric se filtrează în totalitate la nivelul glomerulilor, dar se reabsoarbe aproape în întregime, la nivelul tubilor renali, un fenomen neobişnuit pentru un produs de deşeu. Eliminarea acidului uric se realizează însă printr-un proces de secreţie tubulară. În condiţiile unei diete lipsită de purine, eliminările urinare de acid uric sunt în medie de 400 mg/24h (2.4 mmol/zi), fiind de obicei sub 600 mg/24 ore (3.6 mmol/zi) dar pot ajunge până la 1000 mg/24 ore (6 mmoli/zi) în cazul unei diete fără restricţii.

Eliminările urinare de acid uric cresc proporţional cu fluxul urinar, iar orice situaţie care duce la oligurie, se soldează cu o retenţie de acid uric. Este evident că insuficienţa renală va perturba eliminările urinare de acid uric şi va duce implicit la hiperuricemie. Mai puţin cunoscută este însă competiţia între eliminările tubulare de acid uric şi eliminările unor acizi organici cum sunt corpii cetonici, acidul lactic, precum şi acidul salicilic şi fenilbutazona. De subliniat însă că, luate în doze terapeutice maxime, salicilaţii si fenilbutazona inhibă reabsorbţia tubulară a acidului uric şi exercită un efect uricozuric (8).

10.2. HIPERURICEMIILE

Creşterea acidului uric peste 7 mg/dl se poate întâlni la aproximativ 3 cazuri din 1000 de subiecţi investigaţi în cadrul unor studii epidemiologice. Hiperuricemia se poate datora fie unei producţii crescute de acid uric, fie unei reduceri a excreţiei urinare. Se consideră că în mai bine de două treimi a cazurilor de hiperuricemie, cauza principală este în legătură cu un deficit de eliminare. Fără îndoială că la anumiţi subiecţi cu hiperuricemie se asociază o hiperproducţie cu o hipoexcreţie. Hiperuricemiile pot fi secundare unei anumite boli, sau pot avea un caracter primar, atunci când nu pot fi puse în legătură cu o anumită stare patologică cunoscută.

10.2.1. HIPERURICEMII SECUNDARE

Există numeroase boli care se asociază cu o creştere a concentraţiei serice de acid uric. Între acestea sunt de amintit:

a. **Insuficienţa renală** care duce la creşteri evidente ale uricemiei atunci când filtrarea glomerulară scade sub 20 ml/min (11).

b. **Reducerea selectivă a excreţiei de acid uric** în absenţa unei insuficienţe renale, poate surveni în cazuri de acidocetoză, în acidoza lactică, precum şi după medicamente care intră în competiţie cu eliminările de acid uric (acid salicilic, aspirină, fenilbutazonă).

O serie de diuretice (tiazidice, furosemid, acid etacrinic şi clortalidona) duc la creşterea uricemiei printr-un mecanism complex, în parte prin inhibarea secreţiei tubulare, în parte prin creşterea reabsorbţiei şi în parte prin reducerea volumului lichidului extracelular (3,8). De notat însă că nici spironolactona şi nici triamterenul nu interferă cu eliminările de acid uric.

c. **O dietă bogată în purine** duce nu numai la creşterea eliminărilor urinare de acid uric, dar şi la creşterea uricemiei. Se consideră că diferenţele în privinţa nivelului seric de acid uric între diverse populaţii şi chiar între diverse clase sociale s-ar datora tocmai consumului diferit de alimente bogate în purine, fiind mai ridicat la popoarele cu standard mai ridicat de

civilizaţie şi în clasele sociale cu un nivel mai ridicat de educaţie şi de inteligenţă. Reamintim însă că purinele alimentare nu constituie principala sursă de purine din organism.

d. **Accelerarea procesului de primenire (turnover)** a nucleoproteinelor, respectiv asocierea unei sinteze accelerate cu o degradare în ritm rapid, se soldează în ultima instanţă şi cu o creştere a uricemiei. Astfel de situaţii survin în sindromul mieloproliferativ, limfoame, mielomatoză. Se consideră că hiperuricemia întâlnită la unii bolnavi cu psoriazis s-ar datora accelerării proceselor de turnover interesând nucleotidele şi acizii nucleici din leziunile psoriatice. Este însă evident că eliberarea de baze purinice şi formarea în exces de acid uric apare, în astfel de cazuri, doar atunci când "calea de cruţare" a purinelor este depăşită (3,8).

e. **Intoxicaţiile cu plumb şi cu săruri de beriliu** produc defecte ale tubilor care, între altele, duc la o creştere a uricemiei.

f. **Hipercalcemia** cauzată de hiperparatiroidism evoluează cu tendinţa la hiperuricemie, probabil printr-un efect al concentraţiilor crescute de calciu asupra tubilor renali.

g. **Alcoolul** exercită un efect complex în economia acidului uric. Intoxicaţia acută poate duce la hiperuricemie prin acidocetoză şi acidoză lactică. Ingestia cronică de alcool se asociază de multe ori cu un nivel moderat crescut al acidului uric, acest fenomen putând fi corelat şi cu efectul inductor al alcoolului asupra enzimelor hepatice. De altfel creşterea uricemiei alături de creşterea activităţii gamaglutamiltransferazei (γ-GT) reprezintă un marker al alcoolismului cronic.

h. **Sindromul metabolic** constând din asocierea obezităţii de tip android (abdominal) cu hipertensiunea arterială, diabetul zaharat noninsulinodependent, hipertrigliceridemie şi predispoziţia la complicaţii trombotice ale aterosclerozei, evoluează adeseori cu creşteri ale uricemiei (7,15,16). Mecanismele acestei asocieri sunt încă neclare, dar se poate presupune o legătură patogenică cu hiperinsulinismul acestor subiecţi şi cu inducerea unor enzime hepatice, între care s-ar putea include şi cele cu rol în producerea de purine şi implicit de acid uric (vezi şi capitolele 1 şi 3). Pe de altă parte, hiperinsulinismul favorizează reabsorbţia tubulară a acidului uric şi astfel diminuă eliminările urinare.

i. **Anomalii genetice în metabolismul hidraţilor de carbon** ca de exemplu în glicogenoza de tip I (boala von Gierke) se pot asocia cu hiperuricemie. În astfel de cazuri cu deficit de glucozo 6-fosfatază, excesul de glucozo-6-fosfat trece pe calea şuntului hexozomonofosfatic, formându-se mari cantităţi de pentoze (ribozofosfaţi) care pot trece spre formarea de PRPP implicat în purinogeneză. Fenomenul sugerează o inducere a PRPP sintetazei prin exces de substrat (ribozo-5-fosfat).

Rolul factorilor genetici este sugerat de caracterul familial al hiperuricemiei la aproximativ o treime a pacienţilor cu gută şi este de presupus că, în unele cazuri, astfel de factori genetici se exprimă prin modificări în activitatea enzimelor implicate în metabolismul purinelor. Aceste aspecte vor putea fi mai bine înţelese după expunerea anumitor anomalii majore în metabolismul purinelor, având caracter familial bine documentat şi în care s-a elucidat mecanismul de transmitere şi defectul enzimatic.

10.2.2. HIPERURICEMII PRIMARE PRIN ENZIMOPATII

Deşi relativ rare, aceste anomalii ridică importante probleme de patogeneză, reprezentând adevărate experimente ale naturii. Un exemplu tipic este realizat de sindromul Lesch-Nyhan al cărui studiu a adus contribuţii majore la înţelegerea mecanismelor prin care se reglează sinteza de purine şi care aruncă o lumină asupra intervenţiei enzimopatiilor în patogeneza gutei.

10.2.2.1. SINDROMUL LESCH-NYHAN

Această anomalie genetică a fost descrisă pentru prima dată în 1964 de către studentul Michael Lesch şi de către mentorul său William Nyhan. Copiii afectaţi de această boală apar normali la naştere, dar după aproximativ 1 an încep să prezinte fenomene neuropsihice (spasticitate, coreoatetoză şi retardare mintală), iar în 50% a cazurilor apar crize epileptiforme. Simptomul cel mai impresionant este însă tendinţa la automutilare. Copiii îşi rod falangele şi buzele, iar Nyhan a caracterizat acest comportament ca fiind "un ros al unghiilor de mare intensitate". De multe ori aceşti copii devin agresivi faţă de anturaj, iar, cu timpul, dezvoltă o gută severă şi litiază renală urică.

Laboratorul evidenţiază în unele cazuri o anemie megaloblastică, dar fenomenul cel mai pregnant este hiperuricemia şi hiperuricozuria, sugerând o producţie excesivă de acid uric. Deficitul enzimatic care stă la baza acestei hiperproducţii este la nivelul hipoxatin-guanin-fosforiboziltransferazei (HGPRT) cu rol pe calea de cruţare a purinelor. Ca urmare, guanina şi hipoxantina nu mai sunt încorporate în nucleotidele respective care, în mod normal, exercită o inhibiţie prin feed-back negativ asupra PRPP amido-transferazei. Scoaterea din joc a mecanismului de control se soldează cu o accelerare patologică a sintezei de purine care, neîncorporate în nucleotide, se transformă în acid uric. Locusul genetic al HGPRT este pe braţul lung al cromozomului X, iar conform acestei localizări boala se transmite printr-un mecanism legat de sex, fenomenele clinice fiind manifeste la copii de sex masculin, femeile fiind purtătoare ale anomaliei.

S-au descris deficite totale şi parţiale ale activităţii HGPRT, iar prezenţa a doar câteva procente din activitatea acestei enzime este în măsură să prevină fenomenele neuropsihice, fără a putea împiedica apariţia hiperuricemiei şi a gutei.

În timp ce manifestările de gută sunt uşor de explicat, iar anemia megaloblastică, prezentă uneori, poate fi explicată printr-un consum exagerat de acid folic în procesul de purinosinteză, este încă dificil de a se găsi o explicaţie pe deplin plauzibilă a fenomenelor neuropsihice. În acest sens este demn de semnalat că sistemul nervos central şi în special nucleii bazali sunt ţesuturile cele mai bogate în HGPRT. Un deficit total al acestei enzime s-ar solda deci cu lipsa de formare şi respectiv o depleţie severă de nucleotide necesare celulelor nervoase. După Nyhan (9) s-ar putea produce un dezechilibru între stimulările serotoninergice şi cele dopaminergice sau adrenergice şi s-a încercat o terapie prin asocierea administrării de 5-hidroxitriptofan cu Carbidopa (un inhibitor al decarboxilazei) şi cu imipramină cu rol de potenţare a activităţii centrale a serotoninei. Acest tratament a produs o ameliorare evidentă, dar de scurtă durată, bolnavii dezvoltând rezistenţă la terapie după câteva luni.

De notat că boala poate fi detectată prenatal prin amniocenteză, celulele fetale afectate fiind incapabile să încorporeze hipoxantina marcată cu izotopi în acizii nucleici (9,14).

10.2.2.2. ALTE HIPERURICEMII CAUZATE DE ANOMALII ENZIMATICE

Existenţa unor cazuri cu deficit minor de HGPRT evoluând cu hiperuricemie şi gută, dar fără manifestări neuropsihice, ridică problema rolului patogenic al unor anomalii enzimatice ducând la o sinteză accelerată de purine şi la hiperuricemie în cazul unor persoane întâlnite în practica curentă.

S-a arătat astfel că unii bolnavi cu hiperuricemie şi gută prezintă un turnover accelerat al PRPP un precursor al purinelor (vezi fig.10.2) şi implicit o activitate crescută a PRPP sintetazei. Cercetări cu glutamină marcată au demonstrat o activitate sporită a glutamin-PRPP amidotransferazei care ar putea fi secundară creşterii concentraţiei substratului său adică al PRPP. Întrucât activitatea enzimei mai sus amintite este, în mod normal, limitată printr-un

mecanism de feed-back negativ exercitat de nucleotidele purinice, se ridică problema unei mutaţii care ar reduce sensibilitatea enzimei faţă de acest mecanism de control.

Se poate deci sugera că hiperuricemia poate fi cauzată de mutaţii la diverse nivele ale lanţului enzimatic cu rol în sinteza purinelor, ca de exemplu un deficit minor de HGPRT, o scădere a sensibilităţii glutamin-PRPP amidotransferazei la mecanismul de feed-back negativ, sau o inducere a PRPP sintetazei (2,5,14).

Ca urmare, hiperuricemiile şi guta ar avea un caracter heterogen în funcţie de situsul mutaţiei. Există de altfel numeroase cazuri de hiperuricemie şi gută în care nu s-au putut evidenţia astfel de anomalii enzimatice şi nu trebuie uitat că anomaliile în procesul de excreţie a acidului uric joacă un rol major în multe cazuri de hiperuricemie.

10.3. CONSECINŢE ALE ACUMULĂRILOR DE ACID URIC

În funcţie de absorbţie, producţie şi eliminare, se realizează un rezervor (miscible pool) de acid uric, care, la adulţii normali este de aproximativ 1200 mg şi din care doar o parte circulă în sânge determinând uricemia. Implicaţiile în patologie ale excesului de acid uric vor depinde deci în mai mare măsură de mărimea rezervorului de acid uric decât de uricemie.

Principala particularitate a acidului uric care îi conferă un rol patogenic, este reprezentată de solubilitatea relativ redusă a acestui produs de deşeu al purinelor. Atunci când lichidul extracelular devine suprasaturat în urat monosodic, această sare se depune sub formă de cristale la nivelul articulaţiilor determinând guta. Pe de altă parte, la un pH de 5 al urinei, cidul uric precipită ca atare şi nu sub formă de urat monosodic.

10.3.1. GUTA

Artrita gutoasă este de aproximativ zece ori mai frecventă la bărbaţi decât la femei. Aspectul clinic al crizei acute de gută este bine cunoscut şi constă în localizarea predilectă la haluce, fenomene inflamatorii locale şi evoluţie momentan benignă.

Aşa cum s-a arătat mai sus, procesul este iniţiat de depunerea cristalelor de urat monosodic la nivelul sinovialei articulare. Se declanşează ca urmare un proces inflamator, caracterizat prin atragerea neutrofilelor care, fagocitând aceste cristale, eliberează enzime lizozomale şi anioni superoxid în celulele sinoviale. Cristalele de urat monosodic produc totodată o activare a factorului XII şi consecutiv a kalicreinei, precum şi a sistemului complement având rezultat eliberarea unor factori chemotactici şi vasodilatatori care accentuează penetrarea neutrofilelor în sinovia inflamată (fig.10.3).

Cercetări recente subliniază importanţa citokinelor proinflamatorii în susţinerea inflamaţiei din criza gutoasă acută. De fapt s-a demonstrat o eliberare de factor de necroză tumorală (TNF-α), de interleukină-1 (IL-1) şi de interleukină-8 (IL-8) în lichidul sinovial, iar aceste citokine induc molecule de adeziune (E-selectin) în endoteliile capilarelor din sinovie favorizându-se şi pe această cale recrutare de celule cu rol în inflamaţie. Un rol important în patogeneza leziunilor li se atribuie şi anionilor superoxid generaţi în neutrofilele activate (12,13).

Manifestările clinice sunt diferite atunci când guta capătă un caracter cronic. În astfel de situaţii depunerile repetate de uraţi în articulaţii duc la formarea aşa zişilor "tofi gutoşi", iar reacţia ţesuturilor din articulaţii realizează aspecte clinice similare celor din atrita reumatoidă (8).

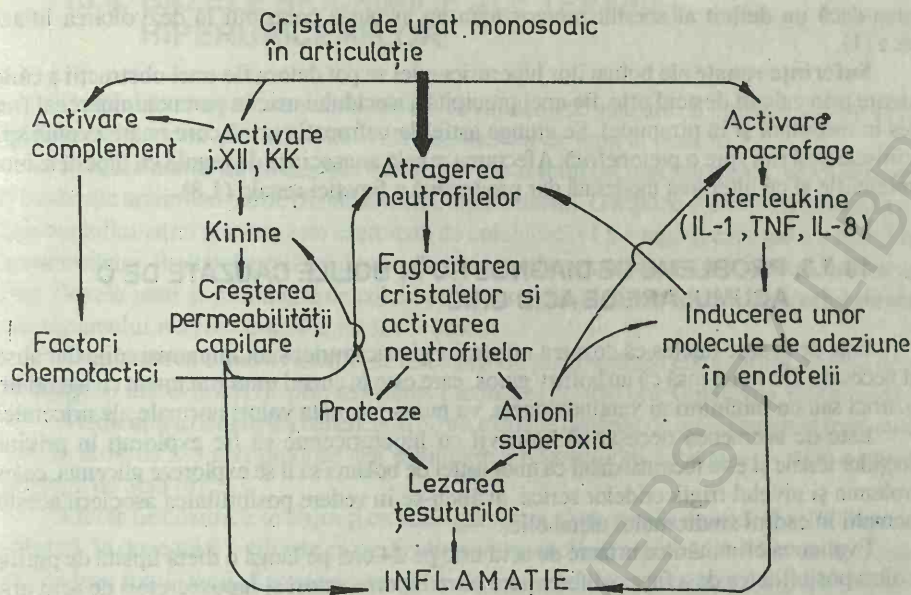


Fig.10.3. Reprezentarea schematică a mecanismelor incriminate în patogeneza crizei gutoase acute. Imaginată după datele din literatură (10,12,13).

10.3.2. ACIDUL URIC ŞI PATOLOGIA RENALĂ

Acidul uric este incriminat în litiaza urinară şi în nefropatia urică. Se estimează că aproximativ 10% a subiecților cu hiperuricemie ajung să sufere de **litiază urinară**. Calculii sunt formați din acid uric şi în consecință sunt radiotransparenți. Atunci însă, când sunt în amestec cu săruri de calciu, chiar şi astfel de calculi devin radioopaci. Deşi calculii de acid uric sunt, de regulă, mici, aceşti calculi pot da colici renale. Principalii factori de risc pentru apariția litiazei renale cu calculi de acid uric sunt:

1. Creşterea concentrației urinare de acid uric, care poate fi la rândul ei cauzată de:
a.o hiperproducție endogenă de acid uric;
b.o dietă excesiv de bogată în purine;
c.scăderea reabsorbției tubulare uric din filtratul glomerular (cauzată de agenți uricozurici);
d.creşterea excreției tubulare de acid uric.

2. Reducerea volumului urinar ca urmare a deshidratării prin pierderi gastrointestinale sau aportul inadecvat de lichide.

3. Reducerea valorilor de pH ale urinei. Întrucât acidul uric are o constantă de disociere (pKa) de 5,46, rezultă că la un pH sub această valoare, cea mai mare parte a acidului uric va fi sub formă nedisociată, iar pe măsură ce pH continuă să scadă, concentrația acestei forme de acid uric ajunge să depăşească solubilitatea în urină. Calculii urinari vor fi deci alcătuiți din acid uric şi nu din cristale de urat monosodic.

Există indicii conform cărora urina ar conține un proteoglican cu rol de menținere a acidului uric în stare coloidală şi având un efect de prevenire a formării calculilor şi se ridică între-

barea dacă un deficit al acestui proteoglican nu ar putea contribui la dezvoltarea litiazei urice (1).

Suferințe renale ale bolnavilor hiperuricemiei se pot datora fie unei obstrucții a căilor urinare prin calculi de acid uric, fie unei precipitări a acidului uric în parenchimul renal (mai ales în medulară şi în piramide). Se ajunge astfel la nefropatia urică care poate evolua spre nefroscleroză sau spre o pielonefrită. Afectarea renală se asociază de regulă cu hipertensiune, proteinurie şi cu alterarea moderată dar progresivă a funcției renale (1,8).

10.3.3. PROBLEME DE DIAGNOSTIC ÎN BOLILE CAUZATE DE O ACUMULARE DE ACID URIC

Este de la sine înțeles că dozarea uricemiei şi uricozuriei sunt nu numai utile dar absolut necesare. De notat însă că un bolnav gutos, care este în cursul unui tratament cu agenți uricozurici sau cu inhibitori ai xantinoxidazei, va putea prezenta valori normale ale uricemiei.

Este de asemenea necesar ca bolnavii cu hiperuricemie să fie explorați în privința funcțiilor renale şi este recomandabil ca unor astfel de bolanvi să li se exploreze glicemia, colesterolemia şi nivelul trigliceridelor serice, avându-se în vedere posibilitatea asocierii acestor anomalii în cadrul sindromului metabolic.

Evaluarea eliminărilor urinare de acid uric pe 24 ore, pe lângă o dietă lipsită de purine, ar oferi posibilitatea de a face o diferențiere între hipersecretori şi hiposecretori de acid uric.

Deşi dovada certă a artritei gutoase este furnizată de evidențierea cristalelor de acid uric în lichidul sinovial, acest lichid nu poate fi întotdeauna obținut. Ca urmare diagnosticul se va baza pe uricemia persistent crescută şi pe absența indiciilor privind un alt tip de poliartrită. De notat că explorările radiologice nu pot diferenția artrita gutoasă față de o altă cauză de artrită erozivă. Tofii gutoşi prezintă o colorație galben palidă dar materialul obținut în interior şi care este urat monosodic are o culoare albă, diferită de a puroiului.

10.3.4.ALTE IMPLICAȚII PATOLOGICE ALE EXCESULUI DE ACID URIC

Cele mai multe organe (ficat, splină, plămâni) se opun depunerii de urat monosodic şi deci nu dezvoltă procese inflamatorii generate de hiperuricemie.

Datorită însă asocierii hiperuricemiei cu boli cardiovasculare şi în special cu hipertensiunea arterială şi cu cardiopatia ischemică, se ridică problema unei posibile implicări a anomaliilor metabolismului purinelor în patogeneza acestor boli (7,16).

În cazul nefropatiei urice, hipertensiunea arterială ar putea fi secundară leziunilor renale şi unei posibile implicări a mecanismului presor renal.

Este însă mult mai dificil, la ora actuală, de a se evalua importanța rolului aterogen al acidului uric față de factorii de risc confirmați. Există însă observații conform cărora, în cursul transformării hipoxantinei şi xantinei în acid uric, sub acțiunea xantinoxidazei, se generează anioni superoxid, iar expresia acestei enzime este amplificată în endoteliile subiecților cu hipercolesterolemie (4). S-ar putea astfel face unele speculații privind o posibilă acțiune sinergic aterogenă a anomaliilor metabolismului lipidic cu anomaliile metabolismului purinelor. În acest sens se poate bănui că anionii superoxid generați în cursul formării acidului uric ar contribui la oxidarea particulelor de LDL, mărindu-le aterogenitatea şi totodată ar accelera degradarea factorului de relaxare derivat din endotelii (EDRF) identificat cu oxidul nitric (NO), crescându-se astfel predispoziția la spasme arteriale.

10.4. BAZELE BIOCHIMICE ALE TERAPIEI HIPERURICEMIILOR

O astfel de terapie este menită să reducă capitalul de acid uric al organismului şi să combată efectele nocive proinflamatorii ale depunerilor de uraţi în ţesuturi.

În **criza acută de gută**, când inflamaţia joacă rolul cel mai important, se va administra o medicaţie antiinflamatorie (fenilbutazonă, indometacin). O acţiune oarecum specifică în combaterea inflamaţiei gutoase este exercitată de colchicină (4 x 5 mg/zi) care reduce mobilitatea granulocitelor, limitând astfel rolul acestora în secvenţa mecanismelor patogenice descrise anterior. Dozele mari şi prelungite de colchicină exercită însă efecte toxice la nivelul stomacului, sistemului nervos central şi măduvei osoase.

Combaterea hiperuricemiei se relizează fie prin creşterea eliminărilor urinare de acid uric (agenţi uricozurici) fie prin reducerea producţiei de acid uric (inhibarea xantinoxidazei).

Medicaţia uricozurică beneficiază de un preparat deosebit de activ Benemid (probenecid) care în doze de 2-3 g/zi produce atât o limitare a retrorezorbţiei cât şi o creştere a excreţiei tubulare de acid uric.

Efecte uricozurice se obţin şi cu sulfinpirazona (Anturan) în doze de 4 x 100 mg/zi. De notat că, în doze mici (utilizate ca medicaţie antitrombotică) aspirina inhibă secreţia tubulară, dar în doze mari (antiinflamatorii) acest medicament inhibă reabsorbţia tubulară, producând o creştere a eliminărilor urinare de acid uric.

Reducerea producţiei de acid uric se obţine prin inhibarea xantinoxidazei, iar medicamentul utilizat de predilecţie este Alopurinolul. Fiind un analog chimic al xantinei acest medicament, administrat în doze de 200 mg/zi, inhibă competitiv xantinoxidaza oprind transformarea oxidativă a hipoxantinei şi a xantinei spre acid uric şi limitând totodată producerea de anioni superoxid. Se ajunge astfel la o acumulare de xantină care, deşi mai solubilă decât acidul uric, poate duce la litiază urinară xantică. Allopurinolul este de regulă bine tolerat, dar poate cauza erupţii cutanate şi în mod excepţional, fenomene de colestază şi inhibarea măduvei osoase.

Avându-se în vedere că medicaţia uricozurică, care duce la o creştere a concentraţiei urinare de acid uric, se poate solda cu precipitări e acid uric în tractul urinar, allopurinolul este de preferat medicaţiei uricozurice în anumite situaţii, ca de exemplu:

a. guta asociată cu insuficienţă renală;
b. nefropatia urică;
c. gută asociată cu litiază renală;
d. în cazurile în care este evidentă o hiperproducţie de acid uric.

De notat că în cazurile renitente de gută, allopurinolul poate fi asociat cu medicaţia uricozurică. Pe de o parte, cazurile de hiperuricemie, care nu prezintă manifestări clinice, nu necesită o terapie de reducere a nivelului seric de acid uric.

Mijloacele de prevenire a litiazei urice se bazează pe următoarele principii:

1. restrângerea consumului de alimente bogate în purine (ficat, rinichi, icre de peşte);
2. creşterea ingestiei zilnice de apă, spre a se preveni o suprasaturare în acid uric a urinei;
3. administrarea de alcaline, avându-se în vedere că o creştere a valorilor de pH urinar va face ca mai mult acid uric să treacă sub formă de urat monosodic ionizat;
4. terapia cu allopurinol este indicată doar în cazurile în care există indicii certe privind o hiperproducţie de acid uric (1,8,17).

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1.Alston W.C. Urolithiasis in Williams and Marks (eidtors) Biochemistry in Clinical practice. William Heinemann. Medical Books Limited London, 1983, pp.290-296
2.Bory C., Chantin C., Boulieu R. Abnormal purine and pyrimidine metabolism in inherited superactivity of PRPP synthetase. Adv. Exp.Biol.1994, 370, 15-18.
3.Fekete T. Metabolismul purinic şi pirimidinic. Acidul uric. In M.Cucuianu, N.Olinic, A.Goia, T.Fekete. Biochimie clinică. Editura Dacia 1979, pp. 267-302.
4.Harrison D.G., Ohara Y., Physiologic consequences of increased oxidant stress in hypercholesterolemia and atherosclerosis. Implications for impaired vasomotion. Amer.J.Cardiol, 1995, 75: 75B-81B.
5. Keley E.N. Inborn errors of purine metabolism. Arth.Rheum.1977 20 suppl. 221-228.
6.Klineberg J.R. The management of asymptomatic hyperuricemia. Clin.Rheum.Dis. 1977, 3: 159-169.
7.Lee J., Sparrow D., Vokonas P.S., Weiss S.T. Uric acid and coronary heart disease risk: evidence for a role of uric acid in obesity-insulin resistance syndrome. Am.J.Epidemiol.1995, 142 (3): 288-294.
8. Myles A. Disorders of joints in Williams and Marks (editors) Biochemistry in Clinical practice. William Heinemann. Medical Books Limited London, 1983, pp.325-336.
9. Nyhan W.L., Johnson H.G., Kaufman I.A., Jones K.L. Serotoninergic approaches to the modification of benhaviour in Lesch-Nyhan syndrome, in Applied Research in Mental Retardation, Pergamon Press New York, 1980, vol.I pp. 25-40.
10. Rozenberg S., Bourgeois P. Que reste-t-il de la goute. Rev.Prat.1994, 44 (2), 178-182.
11.Steele T.H., Rieselbach R.E. The contribution of residual nephrons within the chronically diseased kidney to urate homeostasis in men. Am.J.Med., 1967, 43: 876-886.
12.Varani J., Ward P.A. Mechanisms of neutropfil-dependent and neutrophil-independent endothelial cell injury. Biol.Signals, 1994, 3 (1): 1-14.
13.Weinberger A. Gout, uric acid metabolism and crystal-induced inflammation. Curr.opin.Rheumatol.1995, 7 (4), 359-363.
14. Wyngaarden J.B., Kelley W.N. Gout in Stanbury Wyngaarden and Fredrickson (Editors). The metabolic basis of inherited disese. McGraw-Hill. New York 1978, 116-1010.
15. Zavaroni I., Bonini L., Fantuzzi M., Dall'Anglio E., Passeri M., Reaven G.M. Hyperinsulinism, obesity and syndrome X. J.Intern Med. 1994, 235, 51-56.
16. Zdrenghea D., Marta D., Constantinescu M., Cucuianu M. Behaviour of uricemia in hyperlipoproteinemic subjects. Rev.Roun.Med.Int., 1980, 18, 385-390.
17.Zilva J.F., Pannal P.R. Clinical chemistry in diagnosis and treatment. Lloyd-Luke 1972.

ÎNTREBĂRI DE CONTROL

1. Care este sursa cea mai importantă de purine:
A. Cea alimentară
B. Catabolismul nucleoproteinelor celulare
C. Sinteza "de novo".

2. Eliminarea pe cale urinară a acidului uric se face:
A. Prin filtrare glomerulară
B. Prin secreţie tubulară
C. Prin ambele mecanisme

3. Stabiliţi corespondenţa între enzimele de mai jos şi rolul lor în metabolismul purinelor:

A. Hipoxantin-guanin-fosforiboziltransferaza (HGPRT)
B. Fosforibozilpirofosfat sintetaza (PRPP sintetaza)
C. Glutamin PRPP amidotransferaza
D. Xantinoxidaza

I. duce la formarea de acid uric din xantină
II. iniţiază sinteza purinelor
III. catalizează formarea fosforibozilaminei. Este inhibată de către nucleotide prin feed-back negativ.
IV. intervine pe calea de cruţare a purinelor.

4. Care dintre mecanismele de mai jos pot fi incriminate în patogeneza crizei acute de gută:

A. Precipitarea unor cristale de urat monosodic în sinoviala unei articulaţii
B. Penetrarea neutrofilelor în articulaţie şi înglobarea cristalelor de urat monosodic
C. Eliberarea de enzime din neutrofilele activate
D. Eliberarea de citokine din monocite/macrofage
E. Inducerea unor proteine de adeziune în endotelii care facilitează "recrutarea" celulelor cu rol în inflamaţie
F. Toate aceste mecanisme.

5. Corelaţi medicamentul antigutos cu mecanismul lui de acţiune:

A. Allopurinol
B. Colchicină
C. Probenecid
D. Fenilbutazonă

I. Creşte excreţia renală de acid uric
II. Inhibă xantinoxidaza
III. Antiinflamator
IV. Inhibă migrarea leucocitelor.

6. În sindromul Lesch-Nyhan are loc o accelerare a sintezei de purine, **deoarece**, prin lipsa de formare a nucleotidelor în ţesuturile extrahepatice nu mai are loc inhibiţia prin feed-back negativ a glutamin-PRPP amidotransferazei din ficat.

7. La un pH al urinei în jur de 5 acidul uric tinde să precipite **deoarece** în mediu acid se formează urat monosodic.

8. În leucemiile mieloide cronice tratate cu citostatice are loc o creştere a uricemiei şi uricozuriei **deoarece** în deficitul de HGPRT are loc o sinteză accelerată de purine.

9. **Principala** cauză a hiperuricemiilor este reprezentată de consumul exagerat de ficat, rinichi, icre de peşte şi sparanghel **deoarece** aceste alimente sunt bogate în acizi nucleici şi respectiv în purine.

10. Probenecidul inhibă xantinoxidaza deoarece această enzimă intervine în degradarea acidului uric.

11. Dozele terapeutice antiinflamatorii de salicilaţi şi aspirină cresc eliminările urinare de acid uric, deoarece în astfel de doze aceste medicamente inhibă reabsorbţia tubulară a acidului uric.

Cheia pentru întrebările 6-11:

a. ambele afirmaţii corecte şi legate cauzal
b. ambele afirmaţii corecte dar nelegate cauzal
c. prima afirmaţie corectă, a doua incorectă
d. prima afirmaţie incorectă, a doua corectă
e. ambele afirmaţii sunt incorecte.

Tabel de transformare în sistem internațional (SI) ale unor componente ale serului uman utilizate frecvent în laboratorul clinic

Componente (greutate moleculară relativă)	Unități SI	Factori de conversie (multiplicare)		Unități vechi (încă folosite)
		→ unități vechi	SI ←	
Acid uric (168,11)	µmol/l	0,0168	59,485	mg/dl
Albumină (69000)	µmol/l	0,0069	144,93	g/dl
Amoniac (17,03)	µmol/l	1,703	0,5872	µg/dl
Bilirubină (584,65)	µmol/l	0,0585	17,104	mg/dl
Calciu (40,08)	mmol/l	4,008	0,2495	mg/dl
Colesterol (386,64)	mmol/l	38,664	0,0259	mg/dl
Creatină (131,14)	µmol/l	0,0131	76.254	mg/dl
Creatinină (113,12)	µmol/l	0,0113	88,402	mg/dl
Cupru (63,546)	µmol/l	6,3546	0,1574	µg/dl
Fier (55,847)	µmol/l	5,5847	0,1791	µg/dl
Fosfor (30,974)	mmol/l	3,0974	0,3229	mg/dl
Glucoză (180,16)	mmol/l	18,016	0,0555	mg/dl
Lactat-Acid lactic (90,08)	mmol/l	9,008	0,111	mg/dl
Magneziu (24,312)	mmol/l	2,4312	0,4113	mg/dl
Trigliceride (în medie 875)	mmol/l	87,50	0,0114	mg/dl
Uree (60,06)	mmol/l	6,006	0,1665	mg/dl
Zinc (65,37)	µmol/l	6,537	0,1530	µg/dl

Tabel orientativ privind valorile normale ale activităților unor enzime determinate de rutină în laboratorul clinic la 37°C și utilizându-se reactivi optimizați furnizați de firmele Boehringer, Nobis și Redox.

Enzime	Valori normale
Aspartataminotransferaza (ASAT) *	< 37 U/l la bărbați
	< 31 U/l la femei
Alaninaminotransferaza (ALAT)*	< 42 U/l la bărbați
	< 32 U/l la femei
Lactatdehidrogenaza (LDH)	250-500 U/l
Creatinkinaza (CK, CPK)	< 190 U/l la bărbați
	< 165 U/l la femei
Colinesteraza (CHE)	4500-10000 U/l
Fosfataza alcalină (AlP)	< 280 U/l la adult
	< 800 U/l la copil
g-glutamiltransferaza (g-GT)	< 50 U/l la bărbați
	< 32 U/l la femei
Amilaza serică	< 220 U/l
Amilaza urinară/24 h	< 900 U/24 h

* Deși valorile normale maxime ale activității ASAT sunt ușor inferioare valorilor normale maxime ale activității ALAT, la subiecții normali se observă de regulă că activitatea ASAT este cu ceva mai ridicată decât activitatea ALAT (evident ambele în limite normale).

Redactor MONICA CREMENE
Tehnoredactor GHEORGHE SANDU
Corector MARIA BUZURA
Tehnoredactare computerizată MONICA CREMENE

Apărut: 1998. Bun de tipar: 12.05.1998. Comanda nr. 3792
Coli de tipar: 23. Hârtie: velină 70 g/mp. Format: 70x100/16

Tiparul executat sub comanda nr. 80131
la Imprimeria „ARDEALUL" Cluj-Napoca
B-dul 21 Decembrie nr. 146
ROMÂNIA

Orice probă de laborator trebuie
să fie bine fundamentată fiziopatologic
şi interpretată în lumina datelor clinice.



Lei 55000

ISBN 973-35-0734-2